

Aus dem Landesuntersuchungsamt für das Gesundheitswesen
Nordbayern
— Fachbereich Veterinärmedizin — Nürnberg
Ltd. Vet. Dir. Prof. Dr. G. Steger
vorgelegt über das Institut für
Med. Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität, Fachbereich Tiermedizin
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h. c. A. Mayr

Beitrag zur
serologischen Differenzierung
von Escherichia coli-Stämmen
vom Schwein

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Heinz-Ludwig Glaser
aus Düsseldorf

München 1976

Aus dem Landesuntersuchungsamt für das Gesundheitswesen
Nordbayern
– Fachbereich Veterinärmedizin – Nürnberg
Ltd. Vet. Dir. Prof. Dr. G. Steger
vorgelegt über das Institut für
Med. Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität, Fachbereich Tiermedizin
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h. c. A. Mayr

Beitrag zur
serologischen Differenzierung
von *Escherichia coli*-Stämmen
vom Schwein

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Heinz-Ludwig Glaser
aus Düsseldorf

München 1976

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität
München

Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent: Prof. Dr. Dr. h.c. A. Mayr
Korreferent: Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch

Tag der Promotion: 30. Juli 1976



MEINEN ELTERN
IN DANKBARKEIT,

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	7
2. Literatur	8
2.1. Über die Antigene von Escherichia coli (E.coli)	8
2.2. Serologische Typeneinteilung	11
2.3. Über das Vorkommen von E.coli beim Schwein	13
3. Eigene Untersuchungen	23
3.1. Material und Methodik	23
3.1.1. Bakterienkulturen	23
3.1.2. Nährmedien	23
3.1.2.1. flüssige Nährmedien	23
3.1.2.2. feste Nährmedien	24
3.1.3. Medien für immunoelektrophore- tische Untersuchungen	25
3.1.4. Reinkulturen	25
3.1.4.1. Isolierung	25
3.1.4.2. Biochemische Gruppen- differenzierung	26
3.1.4.3. Prüfung auf Beweglich- keit	26
3.1.5. Antiseren	26
3.1.6. Ausführung der Antigen-Antikörper- reaktionen	27
3.1.6.1. Bakterienagglutinationen	27
3.1.6.2. Präzipitationsreaktion	30
3.2. Ergebnisse	33
3.2.1. Kulturelle Untersuchungen	33
3.2.2. Serologische Untersuchungen	35
3.2.3. Beziehungen zwischen O-Gruppen und pathologisch-anatomischen Diagnosen	41

	Seite
4. Besprechung der Ergebnisse	45
5. Zusammenfassung	50
6. Literaturverzeichnis	53
7. Anhang - Tabellen	68

Lebenslauf

1. Einleitung

Zu den wichtigsten Erkrankungen der neugeborenen und etwas älteren Saugferkel sowie der Absatzläufer und Schweine gehört die Coliinfektion. Sie stellt zur Zeit eine der verlustreichsten Schweinekrankheiten dar und ist deshalb von großer wirtschaftlicher Bedeutung. Die bisherigen bakteriologisch-serologischen Untersuchungen an E.coli-Stämmen aus dem Sektionsmaterial von Schweinen zeigen, daß ein Zusammenhang zwischen bestimmten serologisch festgesetzten E.coli-Typen und der Erkrankung besteht. Einige Serotypen, die immer wieder gefunden werden, weisen auf eine geographische Dominanz hin.

Zur serologischen Differenzierung der O- und K-Antigene mit Hilfe der Bakterienagglutination trat in den letzten Jahren die Untersuchung der Bakterienextrakte mittels der in der Praxis sehr wenig bekannten Immuno-elektrophorese. Aufgabe dieser Arbeit war, vergleichende Untersuchungen an E.coli-Stämmen vom Schwein mittels Bakterienagglutinationen und in der Immuno-elektrophorese vorzunehmen und zu prüfen, ob im Raum Nordbayern in den Jahren 1971 bis 1974 das Auftreten bestimmter O-Gruppen, die bisher in anderen Ländern überwiegend nachgewiesen wurden, bestätigt werden kann und ob zwischen dem Sektionsbefund der Schweine und den gefundenen O-Gruppen ein Zusammenhang besteht.

2. Literatur

2.1. Über die Antigene von *Escherichia coli* (E.coli)

Die ersten Untersuchungen an E.coli-Bakterien, aufgrund deren versucht wurde eine serologische Typeneinteilung aufzustellen, brachten unterschiedliche Ergebnisse (CHRISTIANSEN, 1917; LOGHEM, 1919, 1929; DUDGEON et al., 1922, 1923; MEYER und LÖWENBERG, 1924; LOVELL, 1937; SCHMIDT, 1941). Erst mit der Entdeckung der thermolabilen L-Antigene durch KAUFFMANN (1943) konnte das serologische Verhalten von E.coli verständlich gemacht werden. Er stellte fest, daß viele lebende Stämme von E.coli ein thermolabiles L-Antigen enthalten, das die Antigen-Antikörperreaktion zwischen dem O-Antigen und dem homologen O-Antikörper - ähnlich dem Vi-Antigen der Salmonella-Gruppe - hemmt. Nach Erhitzung auf 100°C für eine Stunde verloren die L-Antigene ihre agglutinablen, agglutininbindenden und antigenen Eigenschaften im Gegensatz zum O-Antigen. KAUFFMANN (1943) beschrieb auch Stämme ohne L-Antigen (L-minus-Formen). Ferner berichtete KAUFFMANN (1944a, 1944b) über Stämme, die nach Erhitzung auf 100°C für 2 1/2 Stunden in ihren homologen O-Antisera nur bei niedrigen Serumverdünnungen agglutiniert wurden. Diese Kulturen nannte er "A-Formen". KNIPSCHILDT (1946) fand in Unkenntnis der Arbeiten von SMITH und BRYANT (1927), daß die A-Formen Kapseln besitzen, die ein thermostabiles Antigen, das A-Antigen, enthalten. VAHLNE (1945) zeigte, daß die durch das A-Antigen verursachte O-Inagglutinabilität durch 2-stündiges Autoklavieren bei 120°C beseitigt werden konnte. Bei Stämmen, bei denen KAUFFMANN (1944a) keine L-Antigene nachweisen konnte, entdeckte KNIPSCHILDT (1946) ein weiteres, als "B" bezeichnetes Oberflächenantigen, dessen Agglutininbindungsfähigkeit im Gegensatz zu den L-Antigenen hitzestabil war. Aufgrund dieser Erkenntnisse schlugen KAUFFMANN und VAHLNE (1945) für die drei neuen B-, L- und A-Antigene die gemeinsame Bezeichnung "K-Antigen"- von Kapsel abgeleitet - vor. Als wichtigste Kriterien für K-Antigene betrachteten die Autoren die

O-Inagglutinabilität lebender Bakterien und ihre Agglutininierbarkeit durch K-Seren, wobei die Hitzeempfindlichkeit unberücksichtigt bleibt. ØRSKOV et al. (1961) fanden bei zwei Stämmen vom Schwein (E68 und G7), die B Antigene besaßen, ein gemeinsames L-Antigen (K88(L)), das bei 18°C Bebrütungstemperatur in seiner Ausbildung gehemmt wurde. In einer weiteren Veröffentlichung berichteten ØRSKOV et al. (1964), daß das gemeinsame L-Antigen K88(L) serologisch nicht einheitlich war.

Mittels Immunoelektrophorese können die Antigenextrakte aus E.coli aufgetrennt und mit O- bzw. OK-Antiseren identifiziert werden (GRADOS und EWING, 1969; HOLMGREN et al., 1969; ØRSKOV und ØRSKOV, 1970). Von ØRSKOV et al. (1971, 1972) wurden die Antigenextrakte aus allen E.coli-Teststämmen in der Immunoelektrophorese gegen ihre homologen O- und OK-Antiseren geprüft. Sie stellten fest, daß die aufgetrennten Antigenextrakte mit den Antikörpern der homologen O-Antiseren Präzipitationslinien bildeten, die sich entweder auf der anodischen oder auf der kathodischen Seite zeigten. Weiterhin fanden sie, daß nur eine geringe Anzahl der Teststämmen ein vom O-Antigen unabhängiges thermostabiles Polysaccharid-K-Antigen enthielten, das ausschließlich zur Anode wanderte. Anhand der gefundenen Immunoelektropherogramme teilten die Autoren die O-Antigene der Teststämmen in drei Gruppen, nämlich 1A, 1B und 2 ein, diese wiederum aufgrund der K-Präzipitationslinien jeweils in zwei Untergruppen. Zur Gruppe 1A und 1B wurden die bei Coliseptikämie des Menschen, zur Gruppe 1B die bei infantiler Enteritis sowie zur Gruppe 2 die bei Dysenterie-ähnlichen Infektionen von Erwachsenen und Kindern gefundenen O-Gruppen zugeordnet. KAUFFMANN (1972) wies im Gegensatz zu ØRSKOV et al. (1971) darauf hin, daß in Fällen, in denen mittels Immunoelektrophorese keine B-Antigene nachgewiesen werden konnten, nicht gefolgert werden darf, daß keine B-Antigene vorhanden sind, sondern die Immunoelektrophorese in diesen Fällen versagt. Er schlug vor, die in der Immunoelektrophorese bestimmten O-Gruppen als "Elektrotypen" zu bezeichnen.

Tabelle 1

Differenzierung der K-Antigene von E.coli (KAUFFMANN, 1975)

Behandlung der Stämme		L	Vi	H	M	O	A	B
Lebend oder 0,5% Formalin	1	+	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+
1 Std. bei 60°C	1	-	-	+	+	+	+	+
	2	(-)	+	+	+	+	+	+
	3	-	+	+	+	+	+	+
2 1/2 Std. bei 100°C	1	-	-	-	-	+	+	-
	2	-	+	-	+	+	+	+
	3	-	-	-	-	+	(+)	-
50% Alkohol 20 Std. bei 37°C	1	-	-	-	-	+	+	+
	2	(-)	+	(-)	.	+	.	+
	3	+	+	+	-	+	+	+
n HCl 20 Std. bei 37°C	1	-	-	-	-	+	+	+
	2	-	-	-	-	+	.	+
	3	-	-	-	-	+	(+)	-

Zeichenerklärung:

L = L-Antigen

+ = vorhanden

Vi = Vi-Antigen

(+) = etwas geschwächt

H = H-Antigen

- = zerstört

M = M-Antigen

(-) = nicht vollkommen zerstört in
dichter Aufschwemmung

O = O-Antigen

. = nicht untersucht

A = A-Antigen

B = B-Antigen

1 = Agglutinabilität

2 = Agglutinin-Bindungsfähigkeit

3 = Antigene Eigenschaften

2.2. Serologische Typeneinteilung

Nach KAUFFMANN und VAHLNE (1945) gründet sich die Differenzierung von Kulturen der Gattung *Escherichia* auf die Bestimmung dreier verschiedener Antigene, die nach dem Ort ihres Vorkommens auf der Bakterienzelle und nach ihrer äußeren Gestalt folgendermaßen benannt werden:

1. O-Antigene = Körperantigene
2. K-Antigene = Hüllen- oder Kapselantigene
3. H-Antigene = Geißelantigene

Die Einteilung der K-Antigene erfolgt aufgrund der Hitzeempfindlichkeit der agglutinablen, agglutininbindenden und antigenen Eigenschaften, wobei die B- und L-Antigene Hüllen- oder Deck- und die A-Antigene Kapselantigene sind (KAUFFMANN, 1943; KNIPSCHILDT, 1945, 1946; VAHLNE, 1945).

Die wichtigsten Eigenschaften, die bei der Differenzierung der Antigene zu berücksichtigen sind, sind in Tabelle 1 dargestellt.

Um die Vielzahl der gefundenen *E.coli*-Stämme aufgrund ihrer Antigene zu ordnen, erstellte KAUFFMANN (1944a) ein Antigeneschema, das 20 ausgewählte O-Gruppen und 17 L-Antigene enthielt. Das "Escherichia-Antigeneschema nach Kauffmann, Knipschildt und Vahlne" wurde laufend erweitert (KAUFFMANN, 1967), wobei die Numerierung der neuen Antigene in der Reihenfolge ihrer Entdeckung erfolgte. Bis zum heutigen Zeitpunkt umfaßt das Antigeneschema 157 O-Gruppen, 94 K-Antigene und 50 H-Antigene (FUROWICZ und ØRSKOV, 1972; ØRSKOV und FUROWICZ, 1972; ØRSKOV et al., 1973). Die Antigenformel, mit der die Serotypen gekennzeichnet werden, wird in der Weise dargestellt, daß zuerst das O-Antigen mit der betreffenden Nummer und dann das K-Antigen mit der K-Nummer und dem dazugehörigen Symbol L, B oder A (jeweils in Klammern) sowie die Bezeichnung des H-Antigens angegeben wird. Zusätzliche Antigenfaktoren werden den Antigenbezeichnungen angefügt (KAUFFMANN und VAHL-

NE,1945; KAUFFMANN und ØRSKOV,1956; SEDLAK und RISCHE, 1961; KAUFFMANN,1966).

Neben der Einteilung der E.coli-Bakterien aufgrund serologischer Eigenschaften in "Serotypen" kann auch eine weitere Einteilung sowohl aufgrund biochemischer Eigenschaften bzw. chemischer Eigenschaften in "Biotypen" und "Chemotypen" als auch aufgrund elektrophoretischen Verhaltens in "Elektrotypen" sowie mit Hilfe von Bakteriophagen in "Phagtypen" vorgenommen werden (KAUFFMANN und ØRSKOV,1956; KAUFFMANN,1966,1967; ØRSKOV et al.,1967).

2.3. Über das Vorkommen von E.coli beim Schwein

In England isolierten SOJKA et al. (1957) zwei Stämme von Schweinen mit Ödemkrankheit und bezeichneten sie mit E4 und E57. Mit Hilfe der mit diesen Stämmen hergestellten O- und OK-Seren wurden 77 hämolysierende E.coli-Stämme von Schweinen mit Ödemkrankheit untersucht. 79% der Stämme konnten dem Serotyp E4 und 9% der Stämme dem Serotyp E57 zugeordnet werden. Von 58 Stämmen, die von Schweinen mit anderen Erkrankungen stammten, reagierten 54 Stämme nicht mit den oben bezeichneten Seren. REES (1959) fand bei seinen Untersuchungen unter 259 E.coli-Stämmen, die aus Schweinen mit Gastroenteritis und Ödemkrankheit isoliert worden waren, überwiegend die hämolysierenden Stämme der Serotypen RVC2907=O141:K85ab(B), O138:K81(B) und O139:K82(B). Weiterhin berichteten SOJKA et al. (1960) über die serologische Typisierung von 1542 hämolysierenden E.coli-Stämmen von Schweinen, die an Ödemkrankheit oder Gastroenteritis erkrankt waren. Mit drei Seren wurden 82% der 411 untersuchten Stämme von ödemkranken Schweinen den O-Gruppen 139 (38,9%), 141 (30,2%) und 138 (12,9%) sowie 74% der 406 Stämme aus Schweinen mit Gastroenteritis den O-Gruppen 141 (28,8%), 8 (17,7%) und 138 (12%) zugeordnet.

In Irland fand TIMONEY (1957), daß die Mehrzahl der aus Schweinen mit Ödemkrankheit isolierten E.coli-Stämme serologisch mit den zwei Typen E4 und E57, die gewöhnlich in England vorkamen, übereinstimmte. In umfangreichen Untersuchungen isolierte SWEENEY (1968a, 1968b, 1970, 1971 und 1972) aus Fällen mit Colienterotoxämie der Schweine am häufigsten die Serotypen O149:K91(B), K88ac(L), O141:K85ab(B) und O141:K84ac(B). Außerdem fand er in geringer Anzahl die O-Gruppen 138, 139, 8 und 147 bzw. die Typen A₂, A₃ und A₄. Alle Stämme waren hämolysierend.

In den USA typisierten EWING et al. (1958) 38 aus Schweinen mit Ödemkrankheit isolierte E.coli-Stämme, von denen sich 30 den Serotypen O138:K81(B):H10 bzw. H- und O139:K82(B):H1 bzw. H- und 8 Stämme den Serotypen O5a,5c,K?:H19, bzw. H-, O75a,75b:K?:H2, OX11 und OX12 zuordnen ließen. MOON et al. (1966) untersuchten 276 E.coli-Stämme von 152 Schweinen im Alter von ein paar Tagen bis zu acht Wochen. Bei den an Durchfall erkrankten Schweinen waren die Typen O8:K85(B), O9:KU115(A) und O101:KU460(A) diejenigen, die am häufigsten vorkamen. Zusätzlich waren die Stämme der O-Gruppen 20, 64, 6 und 140 nachzuweisen. Alle Stämme der O-Gruppe 8 bildeten Hämolyse. Bei Schweinen, die an einer Colibakteriämie verendeten, wurden vorwiegend die O-Gruppen 78, 20, 8, 34, 83, 123, 60, 48, 17 und 77 sowie seltener O141, O119 und O126 gefunden. GOSSLING und RHOADES (1966) isolierten in den Jahren 1960 bis 1964 aus 100 Ferkeln 562 E.coli-Stämme, die in 52 O-Gruppen eingeordnet wurden. Am häufigsten kamen die Stämme der O-Gruppen 8, 9, 20, 101 und 138 vor. In einer weiteren Mitteilung berichteten GOSSLING und RHOADES (1967) über die Differenzierung von E.coli-Stämmen von Saugferkeln mit Diarrhoe und verglichen sie mit Teststämmen. Die Antigene der O-Gruppe 8 wurden als O8:K87(B),K88ab(L):H19 und O8:K87(B),K88ac(L):H19 identifiziert. Die Antigene K87(B),K88(L) und K89(B) waren bei den O-Gruppen O138 und O139 nicht nachzuweisen. Stämme mit dem K88-Antigen zeigten hämolyisierende Eigenschaften. GLANTZ und KRADEL (1971) wiesen bei 2 Tage bis zu 10 Wochen alten Schweinen mit Colienterotoxämie den hämolyisierenden E.coli-Serotyp O149:K91, K88ac:H10 nach.

In Canada untersuchte CAMPBELL (1959) Rektalabstriche von 293 gesunden Ferkeln kurz nach dem Absetzen auf hämolyisierende E.coli-Keime. Von den 127 gefundenen Stämmen gehörten 46 dem Serotypen O138:K81(B) und 9 dem Serotypen O141:K85(B) an. Die von RICHARDS und FRAZER (1961) mit 3

OK-Antiseren typisierten 33 (91%) hämolysierenden E.coli-Stämme von Schweinen, die an Enteritis oder Ödemkrankheit im Alter von 8 bis 12 Wochen verendet waren, enthielten die Antigene O138:K81 (79%) sowie O139:K82 und O141:K85ac (jeweils 2 Stämme). In der Provinz Saskatchewan ermittelten GLANTZ und CLUGSTON (1970) bei 22 Schweinen im Alter von 2 Tagen bis zu 6 Wochen in 21 Krankheitsfällen die Stämme der noch nicht in das internationale Escherichia-Schema eingereihten O-Gruppe X36. GLANTZ et al. (1973) berichteten, daß die E.coli-Stämme, die von Ferkeln mit Colibazilliose in Canada und den USA isoliert und der O-Gruppe mit der Bezeichnung "OX36" zugeordnet wurden, in die neue O-Gruppe 157 einzureihen sind. GYLES et al. (1971) fanden in den Dünndarmabschnitten oder im Kot von 200 Ferkeln mit Gastroenteritis 200 E.coli-Stämme, die in 87% der Fälle den Serotypen O8:K87,K88ac, O116:K"V17",88ac, O138:K81 und O45:K"E65",88ac sowie den O-Gruppen 4 (1 mal) und 98 (2 mal) angehörten.

In Schweden isolierte MANSSON (1962) aus dem Sektionsmaterial von 108 Schweinen im Alter von 4 bis 10 Wochen mit Enteritis 179 E.coli-Stämme, von denen 163 mit 5 O-Seren in die O-Gruppen 141 (47,2%), 138 (43,5%), 6 (3,6%), 2 (3% und 139 (2,4%) eingeordnet werden konnten. SÖDERLIND (1971) differenzierte die O-Antigene von 957 Stämmen, die von 294 Schweinen aus 149 Beständen stammten. Der größte Anteil der untersuchten O-Antigene gehörte den O-Gruppen 8, 138, 139, 141 und 147 an. Bei Neugeborenen und Saugferkeln waren die Stämme der O-Gruppen 8, 141 und 147, bei Schweinen im Alter von 10 Wochen bis 4 Monaten mit Enteritis die der O-Gruppen 138 und 141 am meisten vertreten.

In Norwegen untersuchte SØRUM (1962) die Antigenstruktur der E.coli-Stämme, die aus dem Darm von 100 verendeten Schweinen isoliert worden waren. Bei Saugferkeln, die im

Alter von 2 bis 6 Tagen an Enteritis erkrankt waren, wurden die Stämme der O-Gruppen 8 und 133, bei 6 bis 20 Wochen alten Schweinen mit Ödemkrankheit dagegen die der O-Gruppen 141, 138 und 139 am häufigsten gefunden. Das B-Antigen der Stämme der O-Gruppe 141 trat in den Kombinationen O141:K85ab(B):H4 und O141:K85ac(B):H4 auf. Bei Ferkeln mit Colienterotoxämie wiesen HAGEN und HAUGAN (1963) in 105 von 117 Darmproben hämolysierende E.coli-Keime nach. 87% der isolierten Stämme gehörten den Serotypen O141:K85ab:K85ac(B) und O141:K85ac(B), O141:K85ab(B), K88ab(L) bzw. E145 an. Auch die Stämme der O-Gruppen O138:K81(B) und O139:K82(B) der Typen E57 und E4 waren vertreten.

In Dänemark fanden DAM und KNOX (1974), daß sich die Stämme der OK-Gruppe O149:K91(B) seit ihrer ersten Isolierung im Jahre 1969 in außergewöhnlichem Maße ausgebreitet hatten. Im Jahre 1971 wurden sie bei 82,6% der 1115 Schweine mit Infektionen durch hämolysierende E.coli-Keime nachgewiesen. Auch SVENDSEN et al. (1974) isolierten bei bakteriologischen Untersuchungen in zwei Absatzferkelbeständen mit Diarrhoe häufig die Stämme der O-Gruppe 149. Neben der O-Gruppe 8 kamen die O-Gruppen 141 und 138 seltener vor. Die meisten der gefundenen Stämme zeigten hämolysierende Eigenschaften.

In Finnland ermittelten SCHULMANN et al. (1965) zwischen 1958 und 1963 aus 3982 Proben von Darminhalt, Lymphknoten und Organen 333 hämolysierende E.coli-Keime, die mit Hilfe von 5 OK-Seren den OK-Gruppen O141:K85ab (37,4%), O141:K85ac (20,4%), O138:K81 (18,3%), O139:K82 (12,9%) und O8 (10,7%) zugeordnet werden konnten.

In Belgien fanden POOL und THOMAS (1971) bei 20% der ermittelten E.coli-Stämme die O-Gruppen 8, 138, 139 und 141.

Aus Frankreich berichtete YALCIN (1971) über die Isolierung des Serotyps O149:K91(B),K88ac(L):H10 aus zwei verendeten Ferkeln.

DURISIC (1967) untersuchte in Jugoslawien 221 E.coli-Stämme von 176 an Enteritis verendeten Schweinen aus 53 Beständen, die zu 51,5% den O-Gruppen 138 (52 Stämme), 8 (20 Stämme), 141 (20 Stämme), 139 (9 Stämme), 2 (5 Stämme) und 21 (4 Stämme) zugeordnet werden konnten. Die meisten der differenzierten Stämme zeigten hämolysierende Aktivität.

In Bulgarien isolierte VACHEV (1967) 74 E.coli-Stämme aus 3 bis 10 Tage alten Ferkeln mit Magen-Darmentzündung und 3 aus Schweinefeten. 71 Stämme konnten in 26 O-Gruppen eingeordnet werden. 59% der Stämme gehörten den O-Gruppen 8, 78, 54, 39 und 1011 an. Keiner der 74 Stämme zeigte Hämolysen. Ferner untersuchte VACHEV (1968) 130 nicht hämolysierenden E.coli-Stämme aus parenchymatösen Organen, dem Dünndarm und aus Kotproben von neugeborenen Ferkeln mit Enteritis, die sich in die O-Gruppen 8, 20, 54, 78 und 101 einordnen ließen.

In der Tschechoslowakei untersuchte HAVELKA (1969) 3598 Organproben und den Darminhalt von 881 verendeten Schweinen auf das Vorhandensein von E.coli. Am häufigsten wurden die Stämme der O-Gruppen 8, 78, 101, 138, 139, 141 und 147 aus dem Darm ermittelt. Bei 8,6% der Saugferkel wurden hämolysierende E.coli-Stämme gefunden.

In den Jahren 1957 bis 1959 wurden von PESTI (1960) in Ungarn 230 Stämme von Ferkeln mit Gastroenteritis und 170 Stämme von gesunden Ferkeln mit den O-Antisera 1 bis 124 serologisch untersucht. 61,9% der Stämme von Ferkeln mit Gastroenteritis wurden in die O-Gruppen 9, 121 und 28 eingereiht. Die Stämme von gesunden Tieren konnten da-

gegen keiner der drei O-Gruppen zugeordnet werden. SZABO (1962) typisierte von 500 hämolysierenden E.coli-Stämmen mit Hilfe von 10 Antiseren 416 Stämme, die aus verendeten Schweinen mit Ödemkrankheit und Magen-Darmentzündung isoliert worden waren. Zum Komplex der Ödemkrankheit gehörten die Gruppen O139 (45,8%), O141 (25,3%), O138 (10,2%) und O8 (4,2%), und zum Komplex der Magen-Darmentzündung O8 (35,5%), O141 (26,3%), O138 (16,2%) und O139 (7,2%) sowie je ein Stamm der Typen O21, O41, O2 und O119. Weiterhin berichtete SZABO (1964), daß bei Ausbrüchen der Coliruhr am häufigsten die Stämme der O-Gruppen 8, 9, 21, 28 und 101 festgestellt werden konnten.

In Polen fanden KASZUBKIEWICZ et al. (1967) bei Schweinen mit Gastroenteritis vorwiegend die Serotypen O141:K-(B),K88ac(L):H10, O149:K?(B),K88ac(L):H19 und O8:K87(B):K88ac(L):H19 sowie TRUSZCZYNSKI et al. (1967) unter 650 E.coli-Stämmen von Schweinen, die im Alter von 2 bis 6 Monaten an Ödemkrankheit, Gastroenteritis oder Septikämie verendet waren, die Serotypen E4=O139:K82, O420=O149:K91(B)K88ac(L):H10, E57=O138:K81(B) und G7=O8:K87(B),K88ab(L):H19 am häufigsten. Weiterhin berichtete MALONOWSKA (1971), daß bei verendeten Schweinen mit Coliinfektion die E.coli-Serotypen O141:K85ab (32%), O139:K82 (15,3%), O8:K87,K88ab (10,7%), O138:K81 (2,7%) und G1253 (2%) gefunden werden konnten.

In der UdSSR isolierten EREMEEV(1965) aus 66 verendeten Ferkeln mit Ödemkrankheit 56 hämolysierende E.coli-Stämme, die den O-Gruppen 26, 111, 86 und 145, sowie EREMEEV et al. (1967) 153 hämolysierende E.coli-Stämme von Schweinen aus Beständen mit gehäuftem Auftreten der Ödemkrankheit, die den O-Gruppen 111, 18, 145 und 86 zugeordnet wurden.

In Australien untersuchten ELDER et al. (1969) 177 hä-

molysierende E.coli-Stämme von 99 Schweinen aus 95 Beständen. 50 Stämme aus 28 Beständen reagierten mit dem Antiserum O141:K85ab, 45 Stämme aus 20 Beständen mit O8 und 4 Stämme aus 2 Beständen mit O139:K82. Von 45 hämolysierenden Stämmen konnten 41 bei Fällen mit Ödemkrankheit und 40 bei Fällen mit Colienteritis gefunden werden. BEH und GLENFIELD (1971) isolierten 228 E.coli-Stämme aus 114 verendeten Schweinen, die an Enteritis oder Ödemkrankheit verendet waren. Bei Ferkeln im Alter bis zu einer Woche fanden sie häufig Stämme des Serotyps O8:K87 (B), K88ac(L) und bei älteren Ferkeln mit Enteritis oder Ödemkrankheit Stämme der Serotypen O141:K85ac(B) und O141:K85ab(B). Die OK-Gruppen O8:K87(B), K88ac(L), O139:K82(B), O141:K85ab(B), O45:K"E65", O138:K81(B), O"C11" und O108:K"V189" traten seltener auf. Von 228 Stämmen hämolysierten 200.

Aus Japan berichteten MIURA et al. (1961) über Untersuchungen an 296 Schweinen, die in einem Zeitraum von 1957 bis 1960 an Ödemkrankheit verendeten. Aus 30 Fällen isolierten sie 29 hämolysierende E.coli-Stämme, von denen 23 die Antigenstruktur O139:K82:H1, 4 Stämme O2:KX1 und 2 Stämme O115:KX2:NM aufwiesen. Auch bei klinisch gesunden Schweinen, die in Gebieten mit Fällen von Ödemkrankheit gehalten wurden, konnten hämolysierende E.coli-Stämme festgestellt werden. Bei 62 gesunden Schweinen aus 13 Farmen wurden 18 hämolysierende E.coli-Stämme der Serotypen O139:K82:H1 (6mal), O115:"KX2":NM (2mal), O2:K?:H? (2mal) und 8 unbekannte Typen gefunden.

In der Schweiz stellten HESS und SUTER (1958) zwischen 1957 und 1958 unter 450 Einsendungen von Schweinen 65mal Ödemkrankheit fest. Aus verschiedenen Darmabschnitten und aus Mesenteriallymphknoten wurden hämolysierende E. coli Stämme isoliert, die am häufigsten den Typen O139:K82(B) und O121:K?:H10 angehörten. BERTSCHINGER (1970) fand bei 327 Absatzferkeln mit Colienterotoxämie den Serotyp O139:K82(B) bei Fällen vom Ödemtyp, die Serotypen

0141:K85ab(B) sowohl bei der Colienterotoxämie vom Ödemtyp als auch vom Enteritistyp, während die Serotypen 0138:K81(B), K88ac(L), 0149:K91, K88ac(L), 0147:K89, K88ac(L), 08:K87ab oder 08:K87ab, K88ac vorwiegend bei Fällen mit Gastroenteritis nachgewiesen wurden.

In Österreich untersuchte WILLINGER (1964) über einen Zeitraum von 2 Jahren Kotproben von 511 Ferkeln und Schweinen verschiedenen Alters auf das Vorhandensein hämolysierender E.coli-Bakterien. Er fand, daß die bei der Enterotoxämie fast regelmäßig auftretenden hämolysierenden Colibakterien auch bei allen Altersstufen des gesunden Schweines nachzuweisen waren (68% der Absatzferkel, 21% der Saugferkel und 19% der Altschweine). Am häufigsten wurden bei Absatzferkeln die Typen 0139:K82(B) und 0138:K81(B) sowie seltener die Typen 0141:K85ab(B), K88(L) und 08:K87(B), 88(L) nachgewiesen. Ferner berichteten WILLINGER und ILIADIS (1970) über die serologische Differenzierung von hämolysierenden Coli-Stämmen aus 200 Ferkeln mit Durchfällen und Enteritis. 82% der Stämme konnten in sieben verschiedene O-Gruppen eingereiht werden. 30% aller Stämme gehörten der O-Gruppe 149, 12% den O-Gruppen 8, 138 und 139, 7% den O-Gruppen 141 und 147 sowie 2% der O-Gruppe 45 an. Bei 105 (52,5%) Stämmen konnte das K-Antigen 88 festgestellt werden. ILIADIS (1972) fand unter 371 hämolysierenden E.coli-Stämmen die aus dem Duodenum oder Jejunum stammten, die Serogruppen 0149 (30%), 0138 (11,5%), 08 (10,5%), 0139 (10,2%), 0141 (8,8%) und 0147 (8,6%) in der Reihenfolge ihrer Häufigkeit.

In der DDR stellte WITTIG (1961) in einem Zeitraum von 1959 bis 1960 bei insgesamt 1105 Einsendungen von Schweinen 459mal die Diagnose "Ödemkrankheit". 67% der Fälle betrafen Absatzläufer im Alter von 3 bis 4 Monaten. Seltener trat die Krankheit bei Ferkeln im Alter unter 8 Wochen und bei Altschweinen auf. Die Mehrzahl der E.coli-

Stämme ließ sich serologisch in drei Gruppen einordnen: 0138:K81, 0139:K82 und 0141:K85. In einer weiteren Mitteilung berichtete WITTIG (1963) über die Typisierung von 654 hämolysierenden E.coli-Stämmen aus 625 Schweinen mit Enterotoxämie. Am häufigsten wurden die Serogruppen 08:K87(B)88(L) und 0141:K85ab(B) gefunden. Bei weiteren Untersuchungen fand WITTIG (1965a) bei 83 Saugferkeln aus 30 Betrieben in der Mehrzahl der Fälle einen noch nicht bekannten E.coli-Typ CS1522, der das K88(L)-Antigen besaß und meist nicht hämolysierend war. Außerdem wurden noch folgende OK-Gruppen, die alle das K88(L)-Antigen aufwiesen, gefunden: 08:K87(B), 0147:K89(B) und 0138:K81(B). In einer darauffolgenden Mitteilung berichtete WITTIG (1965b) über die Differenzierung von 654 E.coli-Stämmen aus 826 Schweinen mit Colienterotoxämie. Bei 118 Saugferkeln im Alter von einem Tag bis zu drei Wochen, die an Coliruhr erkrankt waren, wurden die bereits oben erwähnten Stämme des Typs CS1522 bzw. Stämme der Serogruppen 08:K87(B), 88(L) und 0138:K81(B), 88(L) gefunden. Alle Stämme besaßen das K88(L)-Antigen und waren nicht hämolysierend. Bei 510 älteren Ferkeln, Läufern und Mastschweinen mit der Diagnose Colienterotoxämie kamen die Serotypen 0141:K85ab(B) (35,5%), 0139:K82(B) (20,6%), 0141:K85ac(B) und 0138:K81(B) vor. Keiner dieser Stämme besaß das K88(L)-Antigen.

In der Bundesrepublik stellte ULBRICH (1954) vergleichende serologische Untersuchungen an insgesamt 367 E.coli-Stämmen an, die von Fohlen, Kälbern und Lämmern isoliert worden waren. Davon stammten 43 Stämme von kranken und 67 Stämme von gesunden Ferkeln. 25 (58,1%) der Stämme aus kranken und 5 (7,4%) der Stämme aus gesunden Ferkeln konnten mit 17 O-Gruppenseren differenziert werden. Im pathologischen Material wurden die Stämme der Gruppen 08 (7 Stämme), 09 (7 Stämme), 026 und 078 (jeweils 2 Stämme), 04, 05 und 064 (jeweils 1 Stamm) sowie weitere

4 O-Gruppen, bei den gesund erscheinenden Ferkeln die O-Gruppen 4, 8, 9 und 64 gefunden. Stämmen der O-Gruppen 5, 38 und 71 konnten die K-Antigene K1 und K3, der O-Gruppe 8 K3 und K56, der O-Gruppe 9 K2 und der O-Gruppe 26 das K-Antigen 6 zugeordnet werden. Von KRETSCHMAR (1961) wurde bei 1341 Schweinen in 405 Fällen die Coli-enterotoxämie diagnostiziert. Von den 285 isolierten, β -hämolysierenden E.coli-Stämmen konnten 174 mit 4 O-Typenseren in die O-Gruppen 139 (33%), 141 (12,6%), 8 (8,4%) und 138 (7%) eingereiht werden. Im Dünndarm bzw. in Darmlymphknoten von 55 Schweinen, die an Enteritis oder Ödemkrankheit verendet waren, fanden ROLLE und PATZ (1962) folgende E.coli-Typen: O139, O138 und O2. ZIMMERHACKEL (1963) isolierte aus dem Kot von 59 Ferkeln aus 14 Würfen 4 bis 6 Tage nach dem Absetzen β -hämolysierende E.coli-Keime. Neben nicht differenzierbaren Stämmen wurden die O-Gruppen 139, 144 und 138 sowohl bei kranken als auch bei gesunden Tieren gefunden. Bei der Coli-enterotoxämie der Ferkel fand BRACK (1965) vorwiegend die Serotypen O138:K81(B), O139:K82(B) und O141:K85(B).

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material und Methodik

3.1.1. Bakterienkulturen

Untersucht wurden 251 gramnegative, laktosepositive Bakterienkulturen, die aus dem Sektionsmaterial von 240 Schweinen mit Coliinfektionen isoliert und zur Herstellung stallspezifischer Vaccine lyophilisiert aufbewahrt worden waren. Das Sektionsmaterial war zwischen 1971 und 1974 aus verschiedenen Gegenden Nordbayerns an das Landesuntersuchungsamt für das Gesundheitswesen Nordbyern - Fachbereich Veterinärmedizin - in Nürnberg eingesandt worden.

3.1.2. Nährmedien

3.1.2.1. Flüssige Nährmedien

3.1.2.1.1. Nährbouillon

Zusammensetzung: Fleischextrakt "Lab Lemco" 1%
(Oxoid L 30)
Pepton (Oxoid L 34) 1%
 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{ H}_2\text{O}$ (Merck) 0,2%
NaCl (Merck) 0,3%
pH 7,6

3.1.2.1.2. Indol-Nitrit-Nährboden (Fertignährboden, Merck)

Reagenzien: Kovacs' Indolreagenz (Merck)
Griess-Ilosvay-Reagenz zum Nitritnachweis (Merck)

3.1.2.1.3. Methylrot-Voges-Proskauer-Bouillon (Merck)

Reagenzien: Methylrot-Indikator (Merck)
Reagenz auf Acetyl-Methyl-Carbinol (Merck)

3.1.2.1.4. Urease-Testtabletten (BAG) in aqua dest. zum

Nachweis der Bildung von Ammoniak aus Harnstoff

3.1.2.2. Feste Nährmedien

3.1.2.2.1. Nähragar

Zusammensetzung wie Nährbouillon (3.1.2.1.1.)
zuzüglich 2% Agar

3.1.2.2.2. Schafblutagar

Zusammensetzung wie Nähragar (3.1.2.2.1.)
zuzüglich 10% defibriniertes Hammelblut

3.1.2.2.3. Simons-Citrat-Agar (Merck)

3.1.2.2.4. Nähragar für Stammkulturen (KAUFFMANN, 1966)

Zusammensetzung wie Nährbouillon (3.1.2.1.1.)
zuzüglich 1% Agar

pH 7,3

3.1.2.2.5. Fuchsin-Laktose-Agar nach Endo (HALLMANN, 1953)

pH 7,6

3.1.2.2.6. Eisen-Zweizucker-Agar nach Kligler (Merck)

3.1.2.2.7. Gelatine-Agar nach Clarke (KÖHLER, 1954)

3.1.2.2.8. Fleischextrakt-Caseinpepton-Hefeextrakt-

Glucoseagar (Medium D1,5) nach SCHLECHT-
WESTPHAL (1966) modifiziert nach ØRSKOV et al.
(1971)

Zusammensetzung: Fleischextrakt (Difco) Oxid 5g
tryptisch verdautes Casein 15g
(CAT Brunnengruber)
Hefeextrakt (Difco) 5g
Glucose (Merck) 0,5g
NaCl 3g
 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ 43g
Pulveragar 15-20g
Aqua dest. 1l

pH 7,4

3.1.3. Medien für immunoelektrophoretische Untersuchungen

3.1.3.1. Diäthylbarbiturat-Acetat-Pufferlösung pH 8,6

Ionenstärke 0,1 nach Michaelis (SCHWICK et al., 1971)

Zusammensetzung: Natrium-Diäthylbarbiturat 13,38g
Natriumacetat-trihydrat 8,83g
Aqua dest. 1500ml
mit 0,1 N HCl auf pH 8,6 eingestellt

3.1.3.2. Agar-Gel für die Immunelektrophorese

Zusammensetzung: Ionagar Nr.2 (Oxoid) 10g
Aqua dest. 500ml
Diäthylbarbiturat-Acetat-
Pufferlösung pH 8,6 500ml
Thiocid (Asid) 100mg
mit 1 N NaOH auf pH 8,6 eingestellt

3.1.3.3. Eisessig 2%ig

3.1.3.4. Methanol-Eisessig (9+1)

3.1.3.5. Amidoschwarzlösung

Zusammensetzung: 0,5% Amidoschwarz 10 B (Merck)
in Methanol-Eisessig (9+1)

3.1.4. Reinkulturen

3.1.4.1. Isolierung

Die lyophilisierten Kulturen wurden in Aqua dest. resuspendiert und auf Schafblutagar- und Endoagarplatten mit der Öse in der Weise ausgestrichen, daß zahlreiche Einzelkolonien wachsen konnten. Nach Bebrütung bei 37°C für 18-20 Stunden wurde je eine laktosepositive Einzelkolonie von den Endoplatten auf Schafblutagarplatten überimpft und abermals für 18-20 Stunden bei 37°C bebrütet. Konnten die Reinkulturen mit Hilfe der biochemischen Prüfung der E.coli-Gruppe zugeordnet werden, wurden sie von der Schafblutagarplatte im Stichverfahren in Nähr-

agar für Stammkulturen überimpft und 18-20 Stunden bei 37°C bebrütet, die Röhrchen luftdicht verschlossen und im Dunkeln bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

3.1.4.2. Biochemische Gruppendifferenzierung

Diese erfolgte, um die einzelnen Kulturen dem Genus Escherichia nach der Definition von KAUFFMANN (1966) zuzuordnen.

Alle Kulturen wurden auf folgende biochemische Reaktionen geprüft: Bildung von H_2S , Indol, Acetyl-Methyl-Carbinol, Nitratreduktion, Citrat-Verwertung, Spaltung von Harnstoff und Gelatineverflüssigung sowie Methylrot-Reaktion.

3.1.4.3. Prüfung auf Beweglichkeit

Die Prüfung der Reinkulturen erfolgte im flüssigen Indol-Nitrit-Nährboden (Merck), der in Reagenzgläser (13x160mm) zu 10 ml abgefüllt worden war. Von einer Schafblutagarplatte wurde der Stamm in die oberste Phase des Hochschichtnährbodens mit einer Platinnadel überimpft und 20-24 Stunden bei 37°C bebrütet. Danach erfolgte die erste Ablesung. Eine Kultur galt als beweglich, sobald der Nährboden eine vollständige, diffuse Trübung aufwies. Nährböden ohne vollständige Trübung wurden zur Beobachtung noch 1-2 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Der unbewegliche Standardstamm CDC62 diente als Kontrolle. Die Kultur wurde als unbeweglich betrachtet, wenn sie sich während der Beobachtungszeit wie der Teststamm verhielt und keine vollständige Trübung eintrat.

3.1.5. Antiseren

Für die serologischen Untersuchungen standen die mit E.

coli-Teststämmen der Internationalen-Escherichia-Zentrale, Kopenhagen, hergestellten O-Antiseren der O-Gruppen 1 bis 157 sowie OK-Antiseren zur Verfügung, die mit bei 37°C (37°-OK-Antiseren) und bei 18°C (18°-OK-Antiseren) bebrüteten Kulturen folgender Standardstämme hergestellt worden waren (MANZ,1971,1973):

CDC62	=	O138:K81(B):H-
CDC63	=	O139:K82(B):H-
D357	=	O147:K89:H19
CG9	=	O141:K85ac(B):H-
RVC2907	=	O141:K85ab-K85ac(B):H4
E68	=	O141:K85ab(B),K88ab(L):H4
A ₂	=	O157:K88ac:H19
D616	=	O149:K91(B),K88ac(L):H10
G7	=	O8:K87(B),K88ab(L):H19

3.1.6. Ausführung der Antigen-Antikörperreaktionen

3.1.6.1. Bakterienagglutinationen

3.1.6.1.1.O-Antigenbestimmung

Die O-Antigene wurden mit Hilfe der Schnellagglutination auf dem Objektträger (ULBRICH,1954; MANZ,1971) und anschließend in der Röhrchenagglutination (KAUFFMANN,1966) bestimmt.

Objektträgeragglutination

Herstellung des O-Antigens

Die auf Agarplatten massiv ausgestrichenen Reinkulturen wurden 18-20 Stunden bei 37°C bebrütet, mit ca. 10 ml einer 0,85%igen NaCl-Lösung abgeschwemmt und in Zentrifugenröhrchen 1 Std. bei 100°C im Dampftopf erhitzt.

Ein großer Teil der Kulturen wurde außerdem noch 2 Std. bei 120°C autoklaviert. Nach Abkühlung der gekochten oder autoklavierten Antigensuspensionen wurden diese 10 min bei 3000 U/min zentrifugiert, der Überstand abgossen, dem mit einer Platinöse aufgelockertem Bodensatz zur Konservierung 0,05 ml einer 5%igen Phenollösung zugesetzt (entspricht einer Phenolkonzentration von 0,25-0,5% bezogen auf die Menge der Antigensuspension) und die Röhrchen mit Gummistopfen verschlossen im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt.

Durchführung der Objektträgeragglutination

Die O-Gruppenserum 1 bis 157 standen in 30 Poolserum zur Verfügung, die jeweils 5 der monovalenten O-Antiserum in der Verdünnung 1:10 enthielten. Lediglich das Poolserum Nr.30 beinhaltete 6 monovalente O-Serum. Von den Poolserum wurde jeweils ein Tropfen und als Kontrolle ein Tropfen 0,85%ige NaCl-Lösung auf den Objektträger gegeben. Neben jedes Poolserum und neben jede Kontrolle wurde die zu prüfende, dichte Antigensuspension mit einer Platinöse gesetzt. Durch Schwenken des Objektträgers mischten sich Antigen und Antiserum. Als positiv wurde eine feinkörnige Agglutination bewertet, die nach 10-20 Sekunden mit aufgeklärter Flüssigkeit eintrat. Im positiven Fall wurde anschließend mit den 1:10 verdünnten monovalenten O-Antiserum des betreffenden Pools weitergetestet. Traten auch dabei Agglutinationen in einem oder mehreren O-Serum auf, so erfolgte die endgültige Bestimmung des O-Antigens in der Röhrchenagglutination.

Röhrchenagglutination

Herstellung der O-Antigensuspension

Stämme, die nach Erhitzung auf 100°C bzw. 120°C auf dem

Objektträger mit O-Antiseren reagierten, wurden in der Röhrenagglutination bis zum Endtiter der O-Seren aus-
titriert.

Dazu wurden die für die Objektträgeragglutination ver-
wendeten Antigensuspensionen mit 0,25%iger Phenol-Koch-
salzlösung verdünnt und mit Hilfe eines Walpole'schen
Komparators (MANNINGER, 1960; MANZ, 1971) auf die Dichte
einer Übernacht-Bouillonkultur eingestellt. Die Verdün-
nung der Antiseren wurde in geometrischer Reihe, ausge-
hend von 1:20 bis 1:5120 mit 0,25%iger Phenol-Kochsalz-
lösung vorgenommen. Ein Teil der in der Objektträgerag-
glutination geprüften O-Antigene wurde auch in der Lang-
samagglutination gegen 30 Poolseren in einer Verdünnung
von 1:600 überprüft.

Durchführung der Röhrenagglutination

Zu jeder Serumverdünnung von 0,3 ml in Reagenzgläsern
wurden 0,3 ml der Antigensuspension hinzugefügt, die An-
sätze in den Ständern durch Schütteln gemischt und im
Wasserbad bei 50°C für 20 Stunden stehen gelassen. Als
Kontrolle dienten 0,3 ml einer 0,25%igen Phenol-Koch-
salzlösung, der 0,3 ml Antigensuspension zugesetzt waren.
Nach dem Abkühlen der Ansätze erfolgte die Beurteilung
der Agglutinate mit unbewaffnetem Auge. Klarte die Flüs-
sigkeit über dem granulierten Bodensatz auf, und konnten
nach dem Aufschütteln feinkörnige oder flockige Aggluti-
nate beobachtet werden, dann galt diese Agglutination
als positiv. Die letzte Serumverdünnung, bei der noch
eine Agglutination zu erkennen war, wurde als Endtiter
ermittelt. Diejenigen Antigen-Antiserummischungen, die
sich gleichmäßig trübten wie die NaCl-Kontrolle, wurden
als negativ angesehen.

3.1.6.1.2.K-Antigenbestimmung

Die Bestimmung der K-Antigene mit 1:10 verdünnten, nicht absorbierten OK-Antiseren sowie der Nachweis der O-Inagglutinabilität in 1:10 verdünnten O-Seren erfolgte im Objektträgertest (KAUFFMANN und VAHLNE, 1945; VAHLE, 1945; FEY, 1957; KAUFFMANN, 1966). Dazu wurden Lebendkulturen verwendet, die 20 Stunden sowohl auf Blutplatten bei 37°C als auch auf Agarplatten bei 18°C gewachsen waren. Eine kleine Menge der Lebendkultur eines Stammes wurde jeweils mit einem Tropfen der verdünnten Antiseren verrieben. Die Ablesung und Beurteilung erfolgte wie bei der oben beschriebenen O-Antigenbestimmung auf dem Objektträger. In den OK-Antiseren wurden mit den bei einer Temperatur von 37°C bebrüteten Kulturen meist grobkörnige bis grobflockige Agglutinate gebildet, hingegen entstanden mit bei 18°C bebrüteten Kulturen meist feinkörnige bis feinflockige Agglutinate.

3.1.6.2. Präzipitationsreaktion

3.1.6.2.1.Immunoelektrophorese

Stämme, die bei der serologischen Typisierung einer O-Gruppe zugeordnet werden konnten, wurden auch mittels Immunoelektrophorese geprüft.

Herstellung der Bakterienextrakte

Die zu prüfende Kultur wurde mit einem Spatel auf Medium D1,5 in zwei große Petrischalen (Ø 14 cm) ausgestrichen und bei 37°C für 20 Stunden bebrütet, mit insgesamt 5 ml einer physiologischen NaCl-Lösung in ein Zentrifugenröhrchen abgeschwemmt, und die dichte Bakteriensuspension im Wasserbad 20 min lang bei 60°C bzw. ein Teil davon 1 Std.

bei 100°C erhitzt. Nach Abkühlung beider Suspensionen wurden diese 20 min bei 3000 U/min zentrifugiert und der Überstand im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt (ØRSKOV et al., 1972).

Durchführung der Immunelektrophorese

Die immunelektrophoretische Arbeitsweise erfolgte nach der durch SCHEIDEGGER (1955) eingeführten Mikromodifikation der von GRABAR und WILLIAMS (1953) beschriebenen Originalmethode. Zur Auftrennung der Antigene wurde das LKB-Gerät (LKB-Produktor AB, Stockholm) verwendet. Auf beschriftete, mit Alkohol-Äther entfettete und gereinigte Objektträger wurden 3 ml der heißen Agarlösung pipettiert und nach Erstarren der Gelschicht die Präparate bis zu ihrer Verwendung in einer feuchten Kammer aufbewahrt. Für die Aufnahme der Extrakte und Antiseren wurden mit dem LKB-Stanzgerät 2 Löcher (Antigenloch) und eine Rinne (Antiserumrinne) in die Agar-Gelschicht gestanzt und danach aus den Auftragstellen für die Extrakte die Agarstückchen mit Hilfe einer Saugnadel, die einer Wasserstrahlpumpe angeschlossen war, herausgesaugt. Mittels einer ausgezogenen Kapillare wurde dann der auf 60°C erhitzte Extrakt (60°-Extrakt) in das Antigenloch über der Rinne, und der auf 100°C erhitzte Extrakt (100°-Extrakt) in das Antigenloch unter der Rinne pipettiert. Die so mit Extrakten beschickten Objektträger wurden in die Elektrophoresekammer gegeben, die mit Diäthylbarbiturat-Acetat-Pufferlösung pH 8,6, Ionenstärke 0,1, versehen war. Nach einer Laufzeit von 2 Stunden bei einer angelegten Spannung von 45 Volt, gemessen an den Enden der Objektträger, wurde die Gelschicht aus der Antiserumrinne mit dem Gelmesser ausgehoben, und das O- oder OK-Antiserum unverdünnt eingefüllt. Für 20 Stunden lagen dann die Präparate in einer feuchten Kammer bei Raumtemperatur. Die Immunprä-

zipitate, die sich während dieser Zeit entwickelten, wurden graphisch aufgezeichnet. Danach erfolgte die Wasserung der Präparate für 48 Stunden in 0,85%iger NaCl-Lösung, die mehrmals gewechselt wurde, und weitere 24 Stunden in Aqua dest. (ØRSKOV et al., 1971). Nach der Trocknung der Gelschichten zwischen angefeuchteten Filterpapieren bei 40°C im Trockenschrank, kamen die Präparate ca. 5 min in eine 2%ige Eisessiglösung. Daraufhin wurden sie in einer 0,5%igen Amidoschwarzlösung 10 min lang gefärbt und anschließend 15 min in Methanol-Eisessig entfärbt.

3.2. Ergebnisse

3.2.1. Kulturelle Untersuchungen

Von 257 Reinkulturen konnten aufgrund der biochemischen Prüfung 251 der Gattung *Escherichia* zugeordnet werden (Tabelle 2). Innerhalb von 24 Stunden spalteten alle Kulturen Laktose und wuchsen nicht auf Nähragar, der als einzige Stickstoffquelle Ammoniumsalze und als einzige Kohlenstoffquelle Citrat enthielt. Ihre Tryptophanase bildete aus Tryptophan Indol und Nitrat reduzierten sie zu Nitrit. Aus Glucose wurde viel Säure (positive Methylrot-Reaktion), dagegen kein Acetoin (negative Voges-Proskauer-Reaktion), bzw. aus schwefelsauren Schwermetallsalzen kein Schwefelwasserstoff gebildet. Gelatineverflüssigung war nicht nachzuweisen (keine Gelatinasebildung), und Harnstoff wurde nicht gespalten (negativer Urease-Test). Insgesamt 6 Kulturen wurden von einer weiteren Untersuchung ausgeschlossen, da sie in einigen, für die Gattung *Escherichia* typischen, biochemischen Reaktionen abwichen (Tabelle 2, Spalten 6 bis 9).

In Tabelle 3, Spalte 3 bis 6 sind die Ergebnisse der Prüfung auf Hämolysebildung und auf Beweglichkeit der 251 *E.coli*-Kulturen aufgeführt. Hämolyisierende Eigenschaften zeigten 138 (55,0%) Kulturen, von denen 89,9% den O-Gruppen 141, 139, 138, 8, 149, 119 und 121 zugeordnet werden konnten. Mit den übrigen Kulturen, die hämolyisierende Eigenschaften aufwiesen, wurden in der Langsamagglutination mit den O-Gruppenserien 141, 139 und 138 niedrige Titer erzielt (1:320). 113 Kulturen waren nicht hämolyisierend. Davon gehörten 11 Stämme der O-Gruppe 8, 5 der O-Gruppe 149, 4 der O-Gruppe 147, 2 der O-Gruppe 139 und 1 Stamm der O-Gruppe 141 sowie anderen O-Gruppen an (Tabelle 3, Spalte 4).

193 Kulturen waren beweglich und 58 unbeweglich (Tabelle 3, Spalten 5 und 6). Der überwiegende Teil der Stämme

Tabelle 2

Ergebnisse der biochemischen Untersuchungen

Anzahl der Stämme	Gruppendifferenzierung									Beweglichkeit
	Laktose	Indol	Nitrit	Methylrot	Urease	Voges-Prosk.	Citrat	H ₂ S	Gelatine	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
193	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
58	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
1	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+
2	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
2	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+
1	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+

Zeichenerklärung

Zu Spalte 2-11: + = positive Reaktion

- = negative Reaktion

der O-Gruppen 141, 139, 8 und 149 zeigte Beweglichkeit, dagegen waren alle Stämme der O-Gruppe 138 unbeweglich..

3.2.2. Serologische Untersuchungen

Tabelle 3, Spalte 2 zeigt die Ergebnisse der O-Antigenbestimmung mittels Bakterienagglutinationen, die mit Hilfe der O-Seren in der Objektträger- und Röhrchenagglutination durchgeführt wurden.

Von insgesamt 251 Stämmen, die nach biochemischer Überprüfung der Gattung *Escherichia* zugeordnet werden konnten, erwiesen sich 4 Stämme sowohl nach Erhitzung auf 100°C (100°-Stämme) als auch auf 120°C (120°-Stämme) in 0,25%iger physiologischer Phenolkochsalzlösung als autoagglutinabel.

Im Objektträgertest reagierten die hitzebehandelten Stämme zum größten Teil sowohl mit mehreren der 30 polyvalenten O-Seren als auch in einigen Fällen mit mehreren monovalenten O-Seren. Durch Austitrieren gegen diese O-Antiseren konnte jedoch in den meisten Fällen aufgrund der Titerunterschiede das O-Antigen bestimmt werden. Ferner zeigten im Objektträgertest die 120°-Stämme mit den entsprechenden O-Antiseren meist schneller eintretende und stärkere Agglutinationen als die 100°-Stämme.

14 der untersuchten 100°-Stämme waren in physiologischer Kochsalzlösung autoagglutinabel. Nach Erhitzung dieser Kulturen auf 120°C für 2 Stunden waren sie jedoch nicht mehr autoagglutinabel. Von ihnen ließen sich 12 den O-Gruppen 141, 138 und 139 zuordnen. Bei einem großen Teil der Kulturen war in der Röhrchenagglutination der Titer mit den 120°-Stämmen höher als der mit 100°-Stämmen. Dies traf besonders für die Stämme der O-Gruppe 141 zu. Mit Hilfe der institutseigenen O-Antiseren, die in der Röhrchenagglutination mit den homologen Standardstämmen einen Endtiter von 1:1280 und darüber besaßen, konnten 192 der untersuchten Stämme in 34 O-Gruppen eingeordnet

werden (Tabelle 5). In der Langsamagglutination wurden mit den hitzebehandelten Stämmen Titerwerte ermittelt, die sowohl mit dem Endtiter der O-Testseren übereinstimmen als auch um eine Titerstufe darüber lagen. Ein Stamm wurde auch dann noch einer O-Gruppe zugeordnet, wenn der Titer eine Stufe unter dem Endtiter der O-Testseren lag.

Bei 11 lyophilisierten Mischkulturen wuchsen sowohl hämolyse-positive als auch hämolyse-negative Kolonien. Die O-Antigene der hämolysierenden Kulturen konnten der O-Gruppe 139 und die der nicht hämolysierenden Kulturen den O-Gruppen 123, 149 (jeweils 2 Kulturen), 6, 8, 15, 20, 35 und 114 (jeweils eine Kultur) zugeordnet werden.

Die Ergebnisse der Objektträgeragglutinationen mit bei 18°C und bei 37°C bebrüteten lebenden Kulturen (18°C- und 37°C-Kulturen) in OK-Antisera sind in der Tabelle 4 wiedergegeben. Wegen der Zusammenballung der Keime in physiologischer Kochsalzlösung wurden 6 hämolysierende und 2 nicht hämolysierende Kulturen von einer weiteren Untersuchung ausgeschlossen (Tabelle 4, Spalte 5). Diese lebenden Kulturen, die im Objektträger-Test in physiologischer Kochsalzlösung Bröckelbildung zeigten, verloren diese Eigenschaft nach Erhitzung.

Alle hämolyse-positiven Reinkulturen und alle Stämme, die in der Langsamagglutination den O-Gruppen 8, 138, 139, 141, 147, 149 und 157 zugeordnet werden konnten, sowie sämtliche hämolyse-negativen Stämme aus dem Selektionsgut des Jahres 1973 wurden in den 37°C-OK-Seren CDC62 (O138), CDC63 (O139), D367 (O147), CG9 (O141), RVC2907 (O141) und A₂ (O157) sowie in den 18°C-OK-Seren G7 (O8), E68 (O141), D616 (O149) und A₂ (O157) getestet.

Die Prüfung der O-Inagglutinabilität der bei 37°C und 18°C bebrüteten lebenden Stämme führte zu unterschiedlichen Ergebnissen (Tabelle 3, Spalten 7 und 8). Als

O-agglutinabel erwiesen sich über die Hälfte der 37°- und 18°-Kulturen des Typs RVC2907, während die 37°- und 18°-Kulturen des Typs E68 meist O-inagglutinabel waren. Der überwiegende Teil der 18°-Kulturen des Typs CDC63 war O-agglutinabel, dagegen nicht die 37°-Kulturen. Ferner war der größte Teil der 37°- und 18°-Kulturen des Typs CDC62 O-agglutinabel, wogegen die meisten der 37°- und 18°-Kulturen des Typs D616 sowie die Stämme der O-Gruppe 8 O-inagglutinabel waren.

Die Agglutinationsergebnisse mit den hämolysierenden Stämmen im Rohrchentest stimmten im Bezug auf die Stämme der O-Gruppen 141, 138, 139 und 149 mit den im Objektträger-test ermittelten Agglutinationsergebnissen in den entsprechenden OK-Antiseren in 115 Fällen überein. 10 weitere Stämme, die nach der Erhitzung in der Röhrchenagglutination mit den O-Seren niedrige Titer (1:320) aufwiesen, agglutinierten in den entsprechenden OK-Typenseren, während in 7 Fällen die Ergebnisse der Langsamagglutinationen von den Ergebnissen der Objektträgeragglutinationen von einander abwichen. Sieben nicht hämolysierende Stämme, die den O-Gruppen 141, 139 und 149 zugeordnet werden konnten, agglutinierten auch in den entsprechenden OK-Antiseren. Dagegen zeigten die hämolyse-negativen Stämme der O-Gruppen 8 und 147 in den OK-Antiseren G7/18°C bzw. D357/37°C keine Agglutinationen. Zehn der hämolyse-negativen Stämme, die in der Langsamagglutination keiner der O-Gruppen 8, 138, 139, 141, 147, 149 oder 157 zugeordnet werden konnten, agglutinierten in einem oder mehreren OK-Antiseren (Tabelle 4, Spalten 7 bis 15). Wie aus Tabelle 4, Spalten 7 und 8 zu entnehmen ist, agglutinierten die Lebendkulturen der Stämme der O-Gruppe 141 jeweils nur in einem der beiden OK-Antiseren stark, entweder im 37°-OK-Antiserum RVC2907 oder im 18°-OK-Antiserum E68. Dementsprechend wurden 24 Stämme zum Typ RVC 2907 und 29 Stämme zum Typ E68 zugeordnet.

Die Ergebnisse der Antigenbestimmung mittels Immunoelktrophorese sind in den Tabellen 7a bis 7e und 8 wiedergegeben. In der Immunoelktrophorese wurde das Verhalten von Extrakten aus 132 Stämmen, die aufgrund der Langsamagglutinationsergebnisse 30 verschiedenen O-Gruppen zugeordnet wurden, gegen die entsprechenden O -Antiseren bzw. Extrakte aus 101 Stämmen gegen OK-Antiseren geprüft. Als Kontrolle wurden Extrakte aus Standardstämmen verwendet. Die Antigenextrakte aus 11 Stämmen bildten mit den Antikörpern der entsprechenden Antiseren keine oder nur unvollständige Präzipitationslinien aus. Dagegen zeigten die übrigen 121 Antigenextrakte mit wenigen Ausnahmen dieselben Eigenschaften im elektrischen Feld, wie dies in den Arbeiten von ØRSKOV et al. (1971, 1972) beschrieben wurde. Bei 99 Stämmen entwickelten sich Präzipitationslinien ausschließlich auf der anodischen Seite. Nach der von ØRSKOV et al. (1971, 1972) aufgrund des immunoelktrophoretischen Bildes eingeführten Einteilung der E.coli-Antigene gehören diese Stämme der Gruppe 2b an. Die übrigen 22 Stämme wurden der Gruppe 1Aa (3 Stämme), 1Ba (8 Stämme) sowie 1Bb (10 Stämme) zugeordnet. Die Extrakte verschiedener Stämme mit gleichen O-Antigenen, verglichen mit den entsprechenden O-Antigenen der Teststämme, ergaben mit den O- und OK-Antiseren zum größten Teil gleiche Präzipitationslinien. Ein Unterschied im Immunoelktrophoresebild bestand darin, daß die Präzipitationslinien, die mit O-Antiseren entstanden, schwächer ausgebildet waren als die gegen die OK-Antiseren.

Wie schon oben erwähnt, bildete der größte Teil der Extrakte aus den untersuchten Stämmen der O-Gruppen 138, 139, 141, 149, 24, 37, 64, 110, 112, 133 und 143 gegen die Antiseren anodisch verlaufende Präzipitationslinien. Es bestand kein wesentlicher Unterschied in der Gestalt der O- und OK-Präzipitate. Als Ausnahme davon bildten die Extrakte der Stämme der O-Gruppe 139 mit dem OK-

Antiserum CDC63 zusätzlich zur O-Präzipitationslinie jeweils einen oder zwei nebeneinander liegende Parallelbögen über und unter der Serumrinne (Tabelle 7b).

Die Ergebnisse der Präzipitationsreaktionen der Extrakte aus Stämmen der O-Gruppe 141 mit ihren 37°-OK-Seren RVC2907 und E68 bzw. mit dem 18°-OK-Serum E68 stimmten mit den im Objektträger-test mit lebenden Kulturen erzielten Agglutinationsergebnissen überein. Die Antigenextrakte reagierten entweder mit den Antikörpern des 37°-OK-Serums RVC2907 oder mit den Antikörpern des 37°- bzw. 18°-OK-Serums E68 unter Ausbildung kräftiger Präzipitationslinien (Tabelle 7a). Im Vergleich dazu waren die Präzipitate mit den Antikörpern des O-Serums 0141 wesentlich schwächer ausgebildet. Die Antigenextrakte aus Stämmen anderer O-Gruppen ergaben mit den Antikörpern der homologen O-Gruppenserum deutlich erkennbare Präzipitationsreaktionen.

Die Stämme der O-Gruppe 8 zeigten in der Immunelektrophorese meist schwache Linien, die nicht in jedem Fall mit der Kontrolle übereinstimmten. Dabei ergaben die 60°- und 100°- Extrakte dieser Stämme mit den O- und OK-Antiserum anodisch und nur in drei Fällen kathodisch verlaufende Präzipitationslinien (Tabelle 7d).

In Tabelle 8 sind die O-Gruppen, denen nur ein oder zwei Stämme zugeordnet werden konnten, nach dem Schema von ØRSKOV et al. (1971, 1972) zusammengestellt. Daraus ist ersichtlich, daß kein Unterschied zwischen den eigenen Untersuchungsergebnissen und den Ergebnissen von ØRSKOV et al. (1971, 1972) besteht.

Mit Hilfe der Immunelektrophorese ließen sich diejenigen Verwandtschaftsreaktionen, die bei der Antigenbestimmung mittels Bakterienagglutinationen auftraten, bestätigen (Tabelle 4).

- 40 -
Tabelle 5

O-Gruppenverteilung von E.coli-Stämmen in den Jahren 1971
bis 1974 bei Schweinen mit Colinfektionen

O-Gruppen	1971	1972	1973	1974	Insgesamt
	Fälle	Fälle	Fälle	Fälle	Fälle
141	21 (33,3%)	14 (16,3%)	12 (18,6%)	11 (31,4%)	58 (23,4%)
139	6 (9,5%)	27 (31,4%)	6 (9,4%)	4 (11,4%)	43 (17,3%)
138	5 (7,9%)	6 (7,0%)	5 (7,8%)	2	18 (7,2%)
8	-	7 (8,1%)	5 (7,8%)	-	12 (4,8%)
149	1	5 (5,8%)	3	1	10 (4,0%)
147	-	1	-	3	4
6	1	2	-	1	4
15	2	1	-	-	3
20	-	1	2	-	3
24	-	-	3	-	3
35	-	1	1	1	3
101	-	-	2	1	3
123	1	2	-	-	3
39	1	-	1	-	2
64	-	-	2	-	2
78	-	-	2	-	2
155	1	1	-	-	2
18	-	-	-	1	1
37	-	1	-	-	1
38	-	-	1	-	1
40	-	1	-	-	1
74	-	-	-	1	1
96	1	-	-	-	1
110	-	-	1	-	1
112	1	-	-	-	1
114	-	1	-	-	1
118	1	-	-	-	1
119	-	-	1	-	1
121	-	-	1	-	1
132	-	1	-	-	1
133	-	-	1	-	1
142	-	-	1	-	1
143	1	-	-	-	1
157	-	-	1	-	1
Nicht grup- piert	20 (31,7%)	13 (15,1%)	13 (20,3%)	9 (25,7%)	55 (22,2%)
Insgesamt:					
Differen- zierbare Stämme	43 (68,3%)	72 (84,7%)	51 (79,7%)	26 (75,0%)	192 (77,8%)
Fälle	63	85	64	35	247
O-Gruppen	13	16	19	11	34

Die Ergebnisse der serologischen Differenzierung der E.coli-Stämme sind in Bezug auf die Häufigkeit und Verteilung der E.coli-O-Gruppen im Sektionsmaterial aus den Jahren 1971 bis 1974 in Tabelle 5 wiedergegeben. Von 247 E.coli-Stämmen aus Darm und Mesenteriallymphknoten von 240 Schweinen konnten 192 (77,8%) in 34 O-Gruppen eingeordnet werden. Am häufigsten wurden die Stämme der O-Gruppen 141 (23,4%), 139 (17,3%), 138 (7,2%), 8 (4,8%) und 149 (4,0%) gefunden. Den ersten 5 O-Gruppen gehörten somit 141 (73,4%) der differenzierbaren Stämme an. Ein Wechsel in der Häufigkeit bzw. in der Verteilung einzelner O-Gruppen in den Jahren von 1971 bis 1974 konnte nicht festgestellt werden. Eine Ausnahme bildeten lediglich die Stämme der O-Gruppe 139, die im Jahre 1972 in 27 Fällen (31,4%) am häufigsten vor allen anderen gefundenen Stämmen auftraten.

3.2.3. Beziehungen zwischen O-Gruppen und pathologisch-anatomischen Diagnosen

Die Sektionsbefunde der Schweine aus den Jahren von 1971 bis Ende 1974 wurden daraufhin ausgewertet, ob zwischen den beschriebenen pathologisch-anatomischen Veränderungen bzw. der Diagnose und den nachgewiesenen O-Gruppen ein Zusammenhang bestand. Anhand der Untersuchungsprotokolle des Landesuntersuchungsamtes Nürnberg wurden die wichtigsten pathologisch-anatomischen Veränderungen, nämlich die Rötung der Magen-Darmschleimhaut bzw. die entzündlichen Erscheinungen, Schwellung der Mesenteriallymphknoten und Ödembildung im Unterhautbindegewebe, in folgende vier Gruppen eingeteilt (Tabelle 6):

Colienterotoxämie ohne Ödembildung:

Diese Erscheinungsform der Coliinfektion wurde bei Ferkeln und Absatzläufern im Alter von 6 bis 10 Wochen dia-

gnostiziert. Die Schleimhaut der Fundusdrüsenzzone sowie die Darmschleimhaut waren diffus gerötet und die Mesenteriallymphknoten wiesen eine deutliche Schwellung auf.

Colienterotoxämie mit Ödembildung:

Dieses Krankheitsbild trat vorwiegend bei 6 bis 18 Wochen alten Ferkeln und Absatzläufern auf. Die Schleimhaut der Fundusdrüsenzzone und die Darmschleimhaut zeigten diffuse Rötungen. Zusätzlich waren in einigen Fällen im Dünn- und Dickdarm katharralische oder fibrinöse Entzündungen bzw. Schwellung der Mesenteriallymphknoten festzustellen. Im Unterhautbindegewebe, vor allem im Hals- und Kopfbereich wurden Ödeme beschrieben.

Coliruhr :

Diese Erscheinungsform der Coliinfektion zeigte sich bei Sauferkeln in den ersten vier Lebenswochen. Bei der Sektion fand man im Magen große Massen geronnener Milch, die Fundusdrüenschleimhaut war gerötet, dagegen zeigten Dick- und Dünndarmschleimhaut nur in Ausnahmefällen geringgradige Rötungen.

Andersartige Krankheiten:

In dieser Spalte der Tabelle 6 wurden alle jene Fälle aufgeführt, die nicht die deutlichen Kennzeichen der oben beschriebenen Befunde aufwiesen. Bei all diesen Schweinen wurden Coli-Keime isoliert und zusätzlich wurden Anzeichen von Vitamin-A-Mangel und Anämien bzw. Befall mit Spulwürmern sowie vereinzelt Pneumonien festgestellt. Andere Tiere waren an enzootischem Herztod oder Maulbeerherzkrankheit verendet.

Dem Komplex der Colienterotoxämie mit bzw. ohne Ödembildung konnten 136 (70,8%) der differenzierbaren Stämme zugeordnet werden, während nur 18,6% der Stämme mit dem Krankheitsbild Coliruhr in Verbindung gebracht wer-

Tabelle 6

Beziehungen zwischen O-Gruppen und pathologisch-anatomischen Diagnosen aus den Jahren 1971 bis 1974

+ = O-Gruppe 139 zusätzlich vertreten

O - Grup- pen	Pathologisch-anatomische Diagnosen				Insgesamt
	Colienterotoxämie			anders- artige Krankheit	
	ohne Ödem- bildung	mit Ödem- bildung	Coliruhr		
	Fälle	Fälle	Fälle	Fälle	Fälle
141	29 (38,2%)	19 (31,3%)	9 (26,5%)	1	58 (31,7%)
139	10 (13,2%)	20 (32,8%)	3	-	33 (18,0%)
138	12 (15,8%)	3	3	-	18 (9,8%)
8	4 ⁺	5 (8,2%)	2	1	12 (6,6%)
149	5 (6,6%)	1	4 ⁺	-	10 (5,5%)
147	3	1	-	-	4
6	2	1	-	1	4
15	1 ⁺	-	1	1	3
20	-	1	1	1	3
24	1	-	2	-	3
35	-	2 ⁺	-	1	3
101	1	-	2	-	3
123	1 ⁺	1 ⁺	1	-	3
39	1	1	-	-	2
64	-	-	1	1	2
78	-	1	1	-	2
155	-	1	1	-	2
18	-	-	-	1	1
37	1 ⁺	-	-	-	1
38	1	-	-	-	1
40	1	-	-	-	1
74	1	-	-	-	1
96	-	1	-	-	1
110	-	-	-	1	1
112	-	-	-	1	1
114	-	1 ⁺	-	-	1
118	-	-	1	-	1
119	-	-	1	-	1
121	-	-	1	-	1
132	-	1 ⁺	-	-	1
133	-	1	-	-	1
142	-	-	-	1	1
143	-	-	-	1	1
157	1	-	-	-	1
Insgesamt	75 (41,8%)	61 (33,3%)	34 (18,6%)	12 (6,6%)	182

den konnten.

Am häufigsten traten die 5 O-Gruppen 141, 139, 138, 8 und 149 auf. Die Colienterotoxämie mit bzw. ohne Ödembildung konnte mit den genannten O-Gruppen in 108 Fällen in Zusammenhang gebracht werden. Die Stämme der O-Gruppe 139 wurden häufiger bei der Colienterotoxämie mit Ödembildung gefunden und die der O-Gruppe 149 verteilten sich annähernd gleichmäßig auf Colienterotoxämie ohne Ödembildung und auf Coliruhr. In 34 Fällen der Coliruhr waren die Stämme der O-Gruppe 141 anzahlmäßig am häufigsten vertreten, gefolgt von den O-Gruppen 149, 139, 138, 8 und 101.

Aus andersartigen Krankheitsfällen wurden E.coli-Keime isoliert, die 12 O-Gruppen zugeordnet werden konnten. Den ersten 5 O-Gruppen, die am häufigsten gefunden wurden, gehörten allerdings nur zwei Stämme an.

4. Besprechung der Ergebnisse

Nach der Definition von KAUFFMANN (1966) konnten von 257 laktosepositiven Reinkulturen aus dem Sektionsgut von Schweinen mit Coliinfektionen 251 (97,7%) Kulturen der Gattung *Escherichia* zugeordnet werden. Davon wurden 247 *E.coli*-Stämme mit Hilfe der Bakterienagglutinationsmethode und 132 *E.coli*-Stämme in der Immunelektrophorese geprüft.

Vergleicht man die Untersuchungsmethoden zur serologischen Differenzierung der Antigene von *E.coli*-Stämmen vom Schwein, so scheint es vorteilhaft in der Routinediagnostik zuerst die lebenden hämolysierenden *E.coli*-Kulturen in den zur Verfügung stehenden OK-Antiseren auf dem Objektträger auf ihre Agglutinabilität zu prüfen, da der überwiegende Teil der nicht hämolysierenden Kulturen keine Agglutination in den mit Teststämmen vom Schwein hergestellten OK-Antiseren zeigt. Anschließend können dann die O-Antigene der in den OK-Antiseren agglutinablen Kulturen in der Langsamagglutination bestimmt werden. Die orientierende Differenzierung der Antigene erhitzter Kulturen mit Hilfe von Pool- bzw. monovalenten O-Antiseren im Objektträgertest erwies sich als eine zeitsparende und brauchbare Methode. Die endgültige Bestimmung der O-Antigene bzw. die Zuordnung der Stämme zu einer O-Gruppe muß jedoch aufgrund der in der Langsamagglutination ermittelten Titer im Vergleich mit den Endtitern der Testseren erfolgen.

Aus den Ergebnissen von ØRSKOV et al. (1961) geht hervor, daß die mit der Langsamagglutinationsmethode erzielten O-Titer von Stämmen der O-Gruppe 141 in einem niederen Bereich lagen, nämlich zwischen 1:320 bis 1:640. Die Autoren waren der Ansicht, daß vermutlich der geringe Antikörpergehalt des Serums oder eine gewöhnlich nicht vor-

handene Hitzestabilität des K-Antigens dafür verantwortlich zu machen wären. Die eigenen Untersuchungsergebnisse bestätigen diejenigen von ØRSKOV et al. (1961), jedoch konnten bei der Mehrzahl der Stämme der O-Gruppe 141 sowie bei zahlreichen Stämmen anderer O-Gruppen ein bis zu zwei Stufen höherer Titer ermittelt werden, wenn diese zwei Stunden bei 120°C autoklaviert wurden. Die Temperatur von 120°C beeinträchtigte demnach nicht die Agglutinabilität der O-Antigene. Dagegen nahm KAUFFMANN (1966) an, daß bei einer Temperatur von 120°C die O-Antigene beschädigt werden, und bevorzugte die Bestimmung der O-Antigene nach Erhitzung der Kulturen auf 100°C. Die Ursache für niedere Titerwerte könnte darin liegen, daß nach dem Erhitzen der Kulturen auf 100°C noch Teile des (B)-Antigens (saures Polysaccharid) "covalent" an das O-Antigen (Lipopolysaccharid) gebunden sind (JANN et al., 1966). Möglicherweise werden die Bindungen bei einer Temperatur von 120°C für 2 Stunden mehr oder weniger zerstört, so daß sich ein größerer Anteil des O-Antigens mit dem O-Antikörper verbinden kann und somit höhere Titer ermittelt werden. Die Stämme der O-Gruppe 101 zeigten ebenfalls nach Erhitzung auf 100°C niedere Titer in der Röhrchenagglutination, die erst nach dem Autoklavieren bei 120°C höher ausfielen. In diesen Fällen mag ein K-Antigen vom (A)-Typ die Agglutination zwischen O-Antigen und O-Antikörper hemmen (ØRSKOV et al., 1971; SOJKA, 1965).

In ihren Untersuchungen legten EWING et al. (1956) und ØRSKOV et al. (1964) dar, daß zwischen einzelnen O-Gruppen Antigen-Verwandtschaften bestehen, und daß der Gehalt an "Minor-Faktoren", die für die Verwandtschaftsreaktionen verantwortlich sein sollen, von Antiserum zu Antiserum unterschiedlich ist (EDWARDS und EWING, 1955; Zitat nach SOJKA, 1965). Die eigenen Untersuchungsergebnisse lassen Verwandtschaftsagglutinationen sowohl im

Objektträgerertest als auch in der Langsamagglutination erkennen. Die Objektträgeragglutinationsmethode war deshalb nur zur orientierenden Differenzierung der O-Antigene geeignet. Die nähere Bestimmung der O-Antigene mußte in der Langsamagglutination aufgrund der ermittelten Titerwerte erfolgen. Die gleichen Verwandtschaftsreaktionen zeigten sich auch in der Immunoelktrophorese. Anhand der Immunpräzipitate war es nicht möglich, das in der Langsamagglutination ermittelte O-Antigen eindeutig zu differenzieren.

Die Analyse der Extrakte aus E.coli-Teststämmen in der Immunoelktrophorese von ØRSKOV et al. (1972) zeigte, daß die Extrakte aus Teststämmen die in die Gruppe 2b eingeordnet wurden, keine von den O-Präzipitationslinien unabhängigen K-Präzipitate mit den homologen OK-Antiseren bildeten, obwohl bei vielen Stämmen dieser Gruppe K-Antigene vom (B)-Typ mit Hilfe der Bakterienagglutinationsmethoden ermittelt wurden. In diese Gruppe fällt der überwiegende Teil der E.coli-Stämme vom Schwein, die bei der Colienterotoxämie gefunden wurden. Bei keinem dieser Stämme konnte bisher ein unabhängiges Polysaccharid-K-Antigen in der Immunoelktrophorese dargestellt werden. Die eigenen immunoelktrophoretischen Untersuchungsergebnisse bestätigen die Ergebnisse von ØRSKOV et al. (1971, 1972) mit einer Ausnahme: die 60°- und 100°-Extrakte der Stämme der O-Gruppe 139 ergaben mit dem homologen O-Serum jeweils zwei und mit dem OK-Antiserum zusätzlich noch zwei bis drei Präzipitationslinien. Daraus könnte man schließen, daß es sich bei diesen Präzipitationslinien um ein unabhängiges K-Antigen handelte. KAUFFMANN (1972) wies im Gegensatz zu ØRSKOV et al. (1971) darauf hin, daß in Fällen, in denen mittels Immunoelktrophorese keine (B)-Antigene nachgewiesen werden konnten, nicht gefolgert werden darf, daß diese nicht vorhanden sind, sondern

die Immunelektrophorese in diesen Fällen versagt. Dies würde bedeuten, daß die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten, im Objektträger test komplet O-inagglutinablen und zusätzlich in den entsprechenden OK-Seren agglutinablen, lebenden Kulturen unbedingt K-Antigene besaßen, die in der Immunelektrophorese nicht nachzuweisen waren.

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse zeigen, daß im wesentlichen bei der Colienterotoxämie mit Ödembildung (Ödemyt) bzw. bei der Colienterotoxämie ohne Ödembildung (Enteritistyp) sowie bei der Coliruhr diejenigen O-Gruppen gefunden wurden, die auch andere Autoren in verschiedenen Ländern als deren wichtigste Vertreter hervorhoben. Es handelte sich dabei um die Stämme der O-Gruppen 141, 139, 8, 149 und 6 (LLOYD, 1957; EWING et al., 1958; SAUNDERS et al., 1960; KREZSCHMAR, 1961; RICHARDS und FRAZER, 1961; WITTIG, 1961, 1963, 1965; MANSSON, 1962; SZABO, 1962; WILLINGER, 1964; BRACK, 1965; ELDER et al., 1969; BERTSCHINGER, 1970; BEH und GLENFIELD, 1971; MALANOWSKA, 1971). Zahlenmäßig variieren die einzelnen O-Gruppen, dennoch traten die oben genannten immer wieder in größerer Anzahl auf. Neben diesen wurde ein großes Spektrum weiterer O-Gruppen, ähnlich wie von PESTI (1960) und VACHEV (1967) beschrieben, gefunden, denen meist nur wenige Stämme zugeordnet werden konnten. Der Begriff der Colienterotoxämie umfaßt nach WITTIG (1965b) die beiden Krankheitsformen Ödemkrankheit und Coliruhr, da keine Septikämie vorliegt und die E.coli-Typen, die mit diesen Krankheitsformen in Verbindung gebracht werden können, hauptsächlich aus dem Darm isoliert werden. Bei der Colienterotoxämie der Absatzläufer fand er die Stämme der O-Gruppen 141, 139 und 138, bei der Coliruhr der jungen Saugferkel neben den Stämmen der O-Gruppen 8 und 139 die Stämme des Serotyps O149:K91(B) am häufigsten. Die vorliegenden eigenen Untersuchungsergebnisse bestätigen

dies im wesentlichen (Tabelle 6). In Übereinstimmung mit den Untersuchungsergebnissen von LLOYD (1957), SZABO (1962), WITTIG (1963,1965a), WILLINGER (1964) und BERTSCHINGER (1970) war auch festzustellen, daß ein großer Teil der bei der Colienterotoxämie mit Ödembildung gefundenen hämolyzierenden Stämme zur O-Gruppe 139 gehörte. Ein Unterschied in der Verteilung der Stämme der Typen RVC2907 und E68 der gleichen O-Gruppe zwischen der Colienterotoxämie mit Ödembildung und der Colienterotoxämie ohne Ödembildung bzw. der Coliruhr war nicht festzustellen. Die Stämme beider O-Gruppen traten bei allen Krankheitsformen in annähernd gleicher Anzahl auf.

5. Zusammenfassung

Aus Darm und Mesenteriellymphknoten von 240 Schweinen wurden 257 Reinkulturen isoliert und biochemisch untersucht. Davon konnten 251 Kulturen der Gattung *Escherichia* zugeordnet werden.

Die O-Antigene von 247 *E.coli*-Stämmen wurden in der Objektträgeragglutination und anschließend in der Röhrchenagglutination differenziert. Davon ließen sich 192 Stämme in 34 O-Gruppen einordnen. Am häufigsten wurden die Stämme der O-Gruppen 141, 139, 138, 8 und 149 gefunden. Im Jahr 1972 wurde ein vermehrtes Auftreten von Stämmen der O-Gruppe 139 beobachtet, bei sonst gleichmäßiger Verteilung der Stämme aller anderen O-Gruppen in den Jahren 1971 mit 1974.

In der Immunelektrophorese wurden die Antigenextrakte aus 132 Stämmen gegen die O-Gruppenserum und Extrakte aus 101 Stämmen gegen die OK-Antiseren geprüft. Nach der von ØRSKOV et al. (1971, 1972) aufgrund des immunelektrophoretischen Verhaltens eingeführten Einteilung der *E.coli*-Antigene gehörten 99 Stämme der Gruppe 2b und 22 Stämme den Gruppen 1Ba, 1Bb und 1Aa an.

Ein Vergleich zwischen den Ergebnissen der Bakterienagglutination und den Ergebnissen der Immunelektrophorese ergab, daß die mittels Bakterienagglutination ermittelten antigenen Verwandtschaftsbeziehungen auch in der Immunelektrophorese nachzuweisen waren. Anhand der Immunpräzipitate war es nicht möglich, das in der Röhrchenagglutination aufgrund der Titerhöhe ermittelte O-Antigen eindeutig zu identifizieren.

Ein Vergleich der Sektionsbefunde von Schweinen mit

den gefundenen O-Gruppen zeigte, daß am häufigsten die Stämme der O-Gruppen 141, 138, 8 und 149 in Fällen der Colienterotoxämie mit bzw. ohne Ödembildung auftraten.

Summary

From bowels and mesenterial-lymphatic-glands of 240 pigs, 257 cultures has been isolated and tested bio-chemically. 251 cultures could be identified as Escherichia.

The O-antigens of 247 E.coli strains has been differentiated by slide-agglutination-test and subsequently by tube-agglutination-test. 192 strains could be classified into 34 O-groups. The most frequently occurring O-groups were 141,139,138, 8 and 149. In 1972 the appearance of O 139 could be observed more frequently, from 1971 to 1974 individual O-groups has been distributed equally.

The antigen extracts of 132 strains has been tested by immunoelectrophoresis against O-antisera, and the antigen extracts of 101 strains against OK-antisera. According to the classification of ØRSKOV et al. (1971, 1972) 99 strains belonged to the group 2b, 22 strains belonged to 1Ba, 1Bb and 1Aa.

Antigenic relationship within O-groups could be proved by agglutination-test and by immunoelectrophoresis. O-antigens could not be identified by immunoelectrophoresis clearly.

The most numerous proof of O-groups in cases of colienterotoxemia in pigs has been 141, 138, 8 and 149.

6. Literaturverzeichnis

1. BEH, K.H.J. and N.S.W. GLENFIELD (1971) :
The incidence of enteropathogenetic *Escherichia coli* serotypes and *Salmonella* spp in pigs in New South Wales
Austral. veter. J., North Melbourne 47, 8, 379-382
2. BERTSCHINGER, H.U. (1970) :
Coli-Enterotoxämie beim Absatzferkel. Abhängigkeit der pathologisch-anatomischen Veränderungen vom Coli-Serotyp
Schweiz. Arch. Tierheilk. 112, 347-384
3. BRACK, M. (1965) :
Die Coli-Enterotoxämie des Schweines
Deutsch. tierärztl. Wschr. 72, 337-346
4. CAMPBELL, S.G. (1959) :
Studies on strains of haemolytic *Escherichia coli* isolated from normal swine after weaning
Vet. Rec. 71, 909-911
5. CHRISTIANSEN, M. (1917) :
Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe im Darm von gesunden Spankälbern und bei deren Darminfektionen
Zbl. Bakt. I., Orig. 79, 196-248
6. DAM, A. and B. KNOX (1974) :
Haemolytic *Escherichia coli* associated with enteritis and enterotoxemia in pigs in Denmark, with particular reference to the rapid spread of serogroup O149:K91
Nord. Veter.-Med., Kopenhagen 26, 3/4, 219-225

7. DUDGEON, L.S., WORDLEY, E. and F. BAWTREE (1922-1923) :
On *Bacillus coli* infections of the urinary tract,
especially in relation to haemolytic organisms
Journ. of Hyg. 21, 168-192
8. DURISIC, S.M. (1967) :
Study on the haemolytic strains of *Escherichia coli*
isolated in enteritis of pigs. (Autoreport
of dissertation work)
Acta vet. Beogr. XVII, Nr.3, 345-352
9. ELDER, J.K., TAMMEMAGI, L. and J.D. BAYNES (1969) :
Occurrence of haemolytic *Escherichia coli* sero-
groups and their relationship to pig diseases in
Queensland
Austr. vet. J. 45, 68-72
10. EREMEEV, M.N. (1965) :
Hämolytische *Escherichia coli* bei der Ödemkrank-
heit der Ferkel
Ref.: Landw. Zbl. Abt. IV, 1, 230
11. EREMEEV, M.N., TETEREV, I.I. und M.B. TRUSKOVA (1967):
Untersuchung der bei der Ödemkrankheit der Fer-
kel isolierten hämolysierenden *Escherichia coli*
Ref.: Landw. Zbl. Abt. IV, 2, 220
12. EDWARDS, P.R. and W.H. EWING (1955) :
Identification of Enterobacteriaceae
Burgess Publishing Company
Minneapolis 15, Minnesota, Second Printing 1957
13. EWING, W.H., TATUM, H.W. and B.R. DAVIS (1958) :
Escherichia coli serotypes associated with edema
disease of swine
Cornell Vet. 48, 201

14. EWING, W.H., TATUM, H.W., DAVIS, B.R. and R.W. REAVIS (1956) :
Studies on the serology of the E.coli group
CDC Monograph. Communicable Disease Center
Atlanta, Georgia
15. FEY, H. (1957) :
Bakteriologie und Serologie der Colisepsis des Kalbes
I. Serologische und biochemische Untersuchungen
Zbl. Vet. Med. 4, 309-318
16. FUROWICZ, A.J. and F. ØRSKOV (1972) :
Two new Escherichia coli O antigens O150 and O157,
and one new K antigen, K92, in strains isolated
from veterinary diseases
Acta path. microbiol. scand. 80, 441-444
17. GLANTZ, P.J. und R.E. CLUGSTON (1970) :
Die Isolierung von Escherichia coli OX36 (nicht
klassifiziert) von Schweinen
Ref.: Landw. Zbl. IV, 9, 229
18. GLANTZ, P.J., GYLES, C.L., GREENFIELD, J. und F. ØRSKOV (1973) :
Isolierung von Escherichia coli O157 von Schweinen
mit Colibazilliose in Canada und den USA
Ref.: Landw. Zbl. IV, 2, 202
19. GLANTZ, P.J. and D. KRADEL (1971) :
Escherichia coli O149:K91, K88ac:H10 isolated from
pigs with colibacillosis in the United States
Amer. J. veter. Res. III. 32, 10, 1607-1608
20. GOSSLING, J. and H.E. RHOADES (1966) :
Serologic types of Escherichia coli isolated from
certain pigs with enteritic disorders
Cornell vet. LVI, 344-353

21. GOSSLING, J. und H.E. RHOADES (1967) :
Identifizierung bestimmter Escherichia coli-Stämme
die von Sauferkeln in den nördlichen zentralen
Staaten der USA isoliert wurden
Ref.: Landw. Zbl. IV, 8, 245
22. GRABAR, P. et C.A. WILLIAMS (1953) :
Methode permettant l'étude conjuguée des propriétés
électrophorétiques et immuno-chimiques d'un mélange
de protéines. Application au serum sanguin
Biochim. biophys. Acta 10, 193-194
23. GRADOS, O. and W.H. EWING (1969) :
Techniques for characterization of soluble
antigens of Enterobacteriaceae
U.S. Dept. of Health, Education and Welfare, Atlanta
24. GYLES, C.L., STEWENS, J.B. and J.A. CRAVEN (1971) :
A study of Escherichia coli strains isolated from
pigs with gastro-intestinal disease
Canad. J. Comp. Med. 35, 3, 258-266
25. HAGEN, O. und A. HAUGAN (1963) :
Bakteriologische und toxikologische Untersuchungen
bei der Colienterotoxämie der Ferkel
Nord. Vet.-Med. 15, 497-511
26. HALLMANN, L. (1953) :
Bakteriologische Nährböden
G. Thieme Verlag, Stuttgart
27. HAVELKA, B. (1969) :
Vorkommen einiger Escherichia coli-Serotypen bei
Schweinen aus der Westslowakei
Veterinari Med. 14, (42), 8, 455-464

28. HESS, E. und P. SUTER (1958) :
Ödemkrankheit des Schweines
Schweiz. Arch. Tierheilk. 11, 653-663
29. HOLMGREEN, J., EGGERTSON, G., HANSON, L. A. and K. LINCOLN (1968):
Immunodiffusion studies on *Escherichia coli*
1. Identification of O, K and H antigens in an
O6 strain
Acta path. microbiol. scand. 76, 304-318
30. ILIADIS, N. (1972) :
Untersuchungen an hämolysierenden Stämmen von
Escherichia coli isoliert aus Ferkeln
Ref.: Zbl. Bakt. 229, 322-323
31. JANN, K., JANN, B., ØRSKOV, F. und I. ØRSKOV (1966) :
Immunochemische Untersuchungen an K-Antigenen von
Escherichia coli
II. Isolierung und Untersuchung der chemischen
Struktur des sauren Polysaccharids aus *E. coli*
O141:K85(B):H4 (K85-Antigen)
Biochem. Z. 364, 368-385
32. KASZUBIEWICZ, C., UGORSKI, L. und A. ZALESINSKI (1967) :
Untersuchungen über das Vorkommen des Antigens
K88(L) in den Serotypen von *Escherichia coli* bei
der Isolierung von Fällen sogenannter Dysenterie
der Schweine
Ref.: Landw. Zbl. IV, 3, 210
33. KAUFFMANN, F. (1943) :
Über neue thermolabile Körperantigene der Coli-
Bakterien
Acta path. microbiol. scand. 20, 21-44
34. KAUFFMANN, F. (1944a) :
Zur Serologie der Coli-Gruppe
Acta path. microbiol. scand. 21, 20-45

35. KAUFFMANN, F. (1944b) :
Untersuchungen über die Körperantigene der Coli-Gruppe
Acta path. microbiol. scand. 21, 46-64
36. KAUFFMANN, F. (1966) :
The Bacteriology of Enterobacteriaceae
Munksgaard, Kopenhagen
37. KAUFFMANN, F. (1967) :
Zur Geschichte der Escherichia-Forschung
Zbl. Bakt., I. Orig. 203, 458
38. KAUFFMANN, F. (1972) :
Zur Klassifikation der Escherichia-Antigene
Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A. 219, 66-68
39. KAUFFMANN, F. (1975) :
Classification of Bacteria
1st edition, 1st impression
Munksgaard, Kopenhagen
40. KAUFFMANN, F. und F. ØRSKOV (1956) :
I. Die Bakteriologie der Escherichia coli-Enteritis
In Adam, A.A. : Säuglingsenteritis
G. Thieme Verlag, Stuttgart
41. KAUFFMANN, F. und G. VAHLNE (1945) :
Über die Bedeutung des serologischen Formenwechsels für die Bakteriophagenwirkung in der Coli-Gruppe
Acta path. microbiol. scand. 22, 119-137
42. KNIPSCHILDT, H.E. (1945) :
Demonstration of capsula antigens in the colon group
Acta path. microbiol. scand. 22, 44-64

43. KNIPSCHILDT, H.E. (1946) :
Demonstration of a new thermolabile antigen in
the colon group
Acta path. microbiol. scand. 23, 179-184
44. KÖHLER, H. (1954) :
Prüfung auf Gelatineverflüssigung nach Clarke
Zbl. Bakt. I. Orig. 161, 541-554
45. KRETZSCHMAR, C. (1961) :
Untersuchungen zur Coli-Enterotoxämie des
Schweines
Mh. Vet.-Med. 16, 891-901
46. LLOYD, M.K. (1957) :
Diskussionsbeitrag zu: TIMONEY, J.F.:
Oedema disease in swine
Vet. Rec. 69, 1160-1172
47. VAN LOGHEM, I.J. (1919) :
Variabilität und Parasitismus
Eine vergleichende Untersuchung von Bakterien der
Typhus-Coli-Gruppe
Zbl. Bakt. I. Orig. 83, 404-409
48. VAN LOGHEM, I.J. (1929) :
Antigene Struktur und Spezifität
Arch. Hyg. 101, 308-319
49. LOVELL, R. (1937) :
Classification of Bacterium coli from diseased
calves
J. Path. Bact. 44, 125-139

50. MALANOWSKA, T. (1971) :

Die Arzneimittelresistenz von aus Schweinen isolierten E.coli-Stämmen

Ref.: Landw. Zbl.IV, b, 262

51. MANNINGER, R. (1960) :

Allitavorsi bakteriologia, immunitastan es altalanos jarvanytan

Mezőgazdasági Kiado. Budapest. 3. kiado

52. MANSSON, I. (1962) :

Haemolytic Escherichia coli serotypes isolated from pigs, cattle, dogs and cats

Acta vet. scand. 3, 65-78

53. MANZ, J. (1971) :

Über die serologische Differenzierung von Escherichia coli-Stämmen beim Kalb

Vet.-med. Diss. München

54. MANZ, J. (1973) :

Vergleichende serologische Untersuchungen an Escherichia coli-Stämmen mit B- und L-Antigenen vom Schwein und Kalb

1. Mitteilung: Über die gemeinsamen L-Antigene

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 86, 366-371

55. MEYER, K. und W. LÖWENBERG (1924) :

Zur Frage der serologischen Einheitlichkeit der Colibazillen

Klin. Wschr. 3, 836-838

56. MIURA, S., SATO, G., ITO, A., MIYAMAE, T. und H. MITAMURA (1961) :

Hämolysierende E.coli aus der für Japan neuen Ödemkrankheit der Schweine

Jap.J. vet. Res. 9, 145-154

57. MOON, H.W., SORENSEN, D.K., SAUTTER, J.H. and J.M. HIGBEE (1966):
Association of *Escherichia coli* with diarrheal
disease of newborn pig
Amer. J. vet. Res. 27, 1007-1011
58. ØRSKOV, I. and F. ØRSKOV (1970) :
The K antigens of *Escherichia coli*
Re-examination and reevaluation of the nature of
L antigens
Acta path. microbiol. scand. 78, 593-604
59. ØRSKOV, F. and I. ØRSKOV (1972) :
Immunoelectrophoretic patterns of extracts
from *Escherichia coli*-O antigen test strains O1
to O157
Acta path. microbiol. scand. 80, 905-910
60. ØRSKOV, I., ØRSKOV, F. and A.J. FUROWICZ (1972):
Four new *Escherichia coli*-O antigens, O148,
O151, O153 and one new H antigen, H50 found in
strains isolated from enteric diseases in man
Acta path. microbiol. scand. 80, 435-440
61. ØRSKOV, F., ØRSKOV, I., JANN, B. and K. JANN (1971):
Immunoelectrophoretic patterns of extracts from
all *Escherichia coli* O and K antigen test strains
correlation with pathogenicity
Acta path. microbiol. scand. 79, 142-152
62. ØRSKOV, F., ØRSKOV, I., JANN, B., MÜLLER-SEITZ, E. and
O. WESTPHAL (1967) :
Immunochemistry of *Escherichia coli* O antigens
Acta path. microbiol. scand. 71, 339-358

63. ØRSKOV, I., ØRSKOV, F. and ROWE (1973) :
Three new *Escherichia coli* O antigens O154,
O155 and O156 and one new K antigen K94
Acta path. microbiol. scand. 81, 59-64
64. ØRSKOV, I., ØRSKOV, F., SOJKA, W.J. and J.M. LEACH (1961):
Simultaneous occurrence of *Escherichia coli* B
and L antigens in strains from diseased swine
Acta path. microbiol. scand. 53, 404-422
65. ØRSKOV, I., ØRSKOV, F., SOJKA, W.J. and W. WITTIG (1964):
K antigens K88ab(L) and K88ac(L) in *Escherichia coli*. A new O antigen: O147 and a new K antigen K89(B)
Acta path. microbiol. scand. 62, 439-447
66. PESTI, L. (1960) :
Classification of bacteria occurring in suckling
pigs
Acta vet. Acad. Sci. hung. 10, 365-374
67. POHL, P. et J. THOMAS (1871) :
1. Enterotoxémie à colibacille hémolytique chez
le porc
2. Propriétés de l'agent pathogène
Ann. Med. vétérin., Bruxelles 115, 4, 253-265
68. REES, T.A. (1959) :
Studies on *Escherichia coli* of animal origin
3. *Escherichia coli* serotypes from pig
J. comp. Path. 69, 334
69. RICHARDS, W.P.C. and C.M. FRAZER (1961) :
Coliform enteritis of weaned pigs.
A description of the disease and its association
with haemolytic *Escherichia coli*
Cornell Vet. 51, 245-257

70. ROLLE, M. und H. PATZ (1962) :
Toxische Colikeime bei durchfall- und ödemkranken
Ferkeln
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 75, 21-22
71. SAUNDERS, C.N., STEVENS, A.J., SPENCE, J.B. and W. SOJKA (1960):
Escherichia coli infections in piglets
Res. vet. Sci. 1, 28-35
72. SCHEIDEGGER, J.J. (1955) :
Une micromethode de l'immunoelectrophorese
Int. Arch. Allergy 7, 103-110
73. SCHLECHT, S. und O. WESTPHAL (1966) :
Wachstum und Lipopolysaccharid (O-Antigen)-Gehalt
von Salmonellen bei Züchtung auf Agarnährböden
Zbl. Bakt. Hyg. I. Orig. 200, 241-259
74. SCHMIDT, H. (1941) :
Coliinfektionen
Behringwerke-Mitteilungen 13-14, 81-110
75. SCHULMANN, A. VASENIUS, H. and H. STENBERG (1965) :
The occurrence of haemolytic Escherichia coli in
Finnish pigs
Nord. Vet. Med. 17, 22-30
76. SCHWICK, H.G., STÖRICKO, K. und W. BECKER (1971):
Qualitative-Plasmaproteinbestimmung durch Immun-
präzipitation
Laboratoriumsblätter Behringwerke Ag, Nr. 3, Juli 1971
77. SEDLAK, J. und R. RISCHE (1961) :
Enterobacteriaceae-Infektionen.
Epidemiologie und Laboratoriumsdiagnostik
VEB G. Thieme, Leipzig

78. SMITH, T.H. and G.BRYANT (1927) :
Studies on pathogenic B.coli from bovine sources
II. Mutations and their immunological significance
J. Exp. Med. 46, 133-441
79. SOJKA, W.J. (1965) :
Escherichia coli in domestic animals and poultry
Commonwealth Agricultural Bureaux
Farnham Royal, Bukes, England
80. SOJKA, W.J., ERSKINE, R.G. and M.K.LLOYD (1957) :
Haemolytic Escherichia coli and "Cedema disease"
of pigs
Vet. Rec. 69, 293-301
81. SOJKA, W.J., LLOYD, M.K. and E.J.SWEENEY (1960) :
Escherichia coli serotypes associated with certain
pig diseases
Res. Vet. Sci. 1, 17-27
82. SÖDERLIND, O. (1971) :
Studies on Escherichia coli in pigs
II. Serological investigations
Zbl. Vet. Med. 18, 569-590
83. SØRUM, L. (1962) :
Untersuchung einer Reihe hämolysierender, bei
der Enteritis-Ödemkrankheit des Schweines isolier-
ter Escherichia coli-Stämme
Nord. Vet. Med. 14, 356-359
84. SVENDSEN, J., LARSEN, J.L. and N.BILLE (1974) :
Outbreak of postweaning Escherichia coli
diarrhoe in pigs
Nord. Vet. Med. 26, 314-322

85. SWEENEY, E.J. (1968a) :
Haemolytic *Escherichia coli* in enteritic disease
of swine
Ir. vet. J. 22, 1, 10-15
86. SWEENEY, E.J. (1968b) :
Escherichia coli in enteritic disease of swine:
Observations on herd resistance
Ir. vet. J. 22, 3, 42-46
87. SWEENEY, E.J. (1970) :
Strains of *Escherichia coli* associated with
mortality in pigs
Ir. vet. J. 24, 6, 108-113
88. SWEENEY, E.J. (1971) :
Escherichia coli enterotoxemia of swine : a
bacteriological study of Irish outbreaks during 1970
Ir. vet. J. 25, 5, 81-85
89. SWEENEY, E.J. (1972) :
Escherichia coli enterotoxemia of swine: a
bacteriological study of Irish outbreaks during 1971
Ir. vet. J. 26, 4, 69-73
90. SZABO, J. (1962) :
Prüfung der "O"-Antigene der aus Schweinen isolier-
ten hämolytisch wirksamen Stämme der *Escherichia*
coli mit besonderer Berücksichtigung der Ödemkrank-
heit der Ferkel
Acta vet. Acad. Sci. hung. 12, 195-202
91. SZABO, J. (1964) :
Coli dysentery of new-born piglets
Magy. Állatorv. Lap. 19, 368-372

92. TIMONEY, J.F. (1957) :
Oedema disease in swine
Vet. Rec. 69, 1160-1175
93. TRUSCZYNSKI, M., CIOSEK, D. und S. TERESZCZUK (1967):
Weitere Untersuchungen über das Vorkommen von
Escherichia coli-Serotypen bei Erkrankungen der
Schweine
Ref.: Landw. Zbl. IV, 3, 209
94. ULBRICH, F. (1954) :
Serologische Typendifferenzierung und Prüfung
toxischer und immunisierender Eigenschaften von
Escherichia coli-Stämmen, die von an Coliruhr
erkrankten Schweinen isoliert wurden
Zbl. Vet. Med. 1, 603-659
95. VACHEV, B. (1967) :
Biological and serological studies of Escherichia
coli isolated from suckling pigs
Brit. vet. J. 123, 53-56
96. VACHEV, B. (1968) :
Über Escherichia coli-Stämme von Saugferkeln,
die an Gastroenteritis eingegangen waren
Ref.: Landw. Zbl. IV, 9, 164
97. VAHLNE, G. (1945) :
Serological typing of the Colon Bacteria
Acta path. microbiol. scand. Suppl. No. 62
98. WILLINGER, H. (1964) :
Untersuchungen über das Auftreten hämolysierender
Colibakterien beim Schwein und deren Beziehung
zur Ödemkrankheit
Wien. tierärztl. Mschr. 51, 361-381; 441-466

99. WILLINGER, H. und N. ILIADIS (1970) :
Serotypisierung hämolysierender, aus Ferkeln
isolierter Colibakterien
Wien. tierärztl. Mschr. 57, 340-342
100. WITTIG, W. (1961) :
Zur Colienterotoxämie (Ödemkrankheit) des Schweines
Mh. Vet.-Med. 16, 587-592
101. WITTIG, W. (1963) :
Untersuchungen über das Vorkommen verschiedener
Escherichia coli-Serogruppen bei der Colienterotoxämie des Schweines
Arch. exp. Vet. Med. 17, 461-482
102. WITTIG, W. (1965a) :
Untersuchungen zur Escherichia coli-Infektion
der jungen Saugferkel (Coliruhr)
Arch. exp. Vet. Med. 19, 657-668
103. WITTIG, W. (1965b) :
Zum Vorkommen des K-Antigens 88(L) bei Escherichia
coli-Stämmen von Schweinen
Zbl. Bakt. I, 197, 487-499
104. YALCIN, N. (1973) :
Existenz eines neuen Serotyps von Escherichia
coli vom Schwein in Frankreich
Ref.: Landw. Zbl. IV, 5, 243
105. ZIMMERHACKL, W. (1963) :
Untersuchungen über die Ausscheidung von β -
hämolytischen Escherichia coli bei Absatzferkel.
Ein Beitrag zur Colienterotoxämie des Schweines
Mh. Vet.-Med. 18, Zusatzheft 1-9

7. Anhang - Tabellen

Tabelle 3

Ergebnisse der O-Antigenbestimmung mittels Objektträger- und Röhrchenagglutinationen

O-Gruppe	Fälle	hämoly- sierend	nicht hämoly- sierend	beweglich	unbeweglich	O - aggluti- nabel	O - inagglu- tinabel
1	2	3	4	5	6	7	8
141	58 (33,1%)	57 (41,3%)	1	55 (28,5%)	3	18 (30,0%)	36 (28,6%)
139	43 (17,1%)	41 (29,7%)	2	37 (19,2%)	6 (10,2%)	13 (21,7%)	29 (23,0%)
138	18 (7,2%)	18 (13,0%)	-	-	18 (31,0%)	10 (16,7%)	8 (6,3%)
8	12 (4,9%)	1	11 (9,7%)	9 (4,7%)	3	-	11 (8,7%)
149	10 (4,0%)	5 (3,6%)	5 (4,4%)	10 (5,2%)	-	3	7 (5,6%)
147	4	-	4	2	2	1	2
6	4	-	4	4	-	1	3
15	3	-	3	3	-	1	2
20	3	-	3	3	-	1	2
24	3	-	3	3	3	2	3
35	3	-	3	3	-	1	2
101	3	-	3	1	2	1	1
123	3	-	3	2	2	1	1
39	2	-	2	2	-	1	1
64	2	-	2	2	2	1	1
78	2	-	2	2	-	1	1
155	2	-	2	2	-	1	1
18	1	-	1	1	-	1	1
37	1	-	1	1	-	1	1
38	1	-	1	1	-	1	1
40	1	-	1	1	-	1	1
74	1	-	1	1	1	1	1
96	1	-	1	1	-	1	-
110	1	-	1	1	-	1	-
112	1	-	1	1	-	1	-

Tabelle 3
(Fortsetzung)

O-Gruppe	Fälle	hämoly- sierend	nicht hämoly- sierend	beweglich	unbeweglich	O - aggluti- nabel	O - inagglu- tinabel
1	2	3	4	5	6	7	8
114	1	-	1	1	-	1	-
118	1	-	1	-	1	1	-
119	1	1	-	1	-	-	1
121	1	1	-	1	-	-	1
132	1	-	1	-	1	-	1
133	1	-	1	-	1	-	1
142	1	-	1	1	-	1	-
143	1	-	1	1	-	-	1
157	1	-	1	-	1	-	1
Nicht grup- piert	55 (22,2%)	12 (8,7%)	43 (38,0%)	45 (23,3%)	10 (17,2%)	-	-
NaCl-Kon- trolle +	4	2	2	3	1	-	-
Insgesamt: Differen- zierbare Stämme	192 (76,5%)	124 (65,0%)	68 (35,0%)	145 (75,5%)	47 (24,5%)	60	126
Fälle	251	138	113	193	58	60	126

Zeichenerklärung zu Tabelle 3 :

- Zu Spalte 1 : Bezeichnung der mittels Objektträger- und
Röhrchenagglutination ermittelten O-Gruppen
- " 2 : Anzahl sowie Zuordnung der 100^o- bzw. 120^o-
E.coli-Kulturen
- " 3 : Anzahl der hämolysierenden Kulturen
- " 4 : Anzahl der nicht hämolysierenden Kulturen
- " 5 : Anzahl der beweglichen Kulturen
- " 6 : Anzahl der unbeweglichen Kulturen
- " 7 : Anzahl der bei 37^oC bebrüteten Lebendkul-
turen, die im homologen O-Gruppenserum
(Verdünnung 1:10) eine Agglutination zeig-
ten
- " 8 : Anzahl der bei 37^oC bebrüteten Lebendkul-
turen, die im homologen O-Gruppenserum
(Verdünnung 1:10) keine Agglutination
zeigten

Tabelle 4
Ergebnisse der Objektträgeragglutinationen in OK-Antiseren mit Lebendkulturen

Fälle	O-Gruppe	hämoly- sierend	nicht hämoly- sierend	NaCl Kontrolle positiv	OK - Seren 1:10 verdünnt										A ₂ 37°C	A ₂ 18°C
					CG9	RVC 2907	E68	CDC63	CDC62	G7	D616	D357				
					37°C	37°C	18°C	37°C	37°C	18°C	18°C	37°C				
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
36	141 37°C	31	1	4	+	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
31	141 37°C	31	-	-	-	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	
41	139 37°C	38	-	2	-	-	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	
1	139 37°C	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
19	138 37°C	19	-	-	-	-	-	-	+++	+++	-	-	-	-	-	
12	8 37°C	-	12	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
10	149 37°C	5	5	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	-	-	-	
2	147 37°C	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	
2	147 37°C	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
1	157 37°C	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
1	38 37°C	-	1	-	-	++	+	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	
1	64 37°C	-	1	-	-	-	-	-	+++	+++	-	-	-	-	-	

Zeichenerklärung zu Tabelle 4

Zu Spalte 1 : Anzahl sowie Zuordnung der E.coli-Lebendkulturen

" 2 : Bezeichnung der in der Langsamagglutination ermittelten O-Gruppen
(Tabelle 3)

" 3 : Anzahl der hämolysierenden Kulturen

" 4 : Anzahl der nicht hämolysierenden Kulturen

" 5 : Anzahl der in physiologischer Kochsalzlösung autoagglutinablen Kulturen

" 6-15 : CG9-37° = OK-Antiserum CG9, hergestellt mit der bei 37°C bebrüteten Lebendkultur

A₂-18° = OK-Antiserum A₂, hergestellt mit der bei 18°C bebrüteten formalinisierten Kultur

+++ = starke Agglutination

++ = abgeschwächte Agglutination

+ = schwache Agglutination

- = keine Agglutination

Tabelle 7a

Ergebnisse der in der Immunelektrophorese geprüften Bakterienextrakte gegen die homologen O-Gruppen- bzw. OK-Antisera

O-Gruppe	Anzahl der Stämme	Antiserum	Immunelektrophorese-Bild
1	2	3	4
141	25	0141	
141	12	37°-OK-RVC2907	
141	13	37°-OK-E68	
141	13	18°-OK-E68	

O-Gruppe	Anzahl der Stämme	Antiserum	Immunelektrophorese-Bild
1	2	3	4
138	17	0138	
	17	37°-OK- CDC62	
139	40	0139	
	40	37°-OK- CDC63	

Tabelle 7c
(Fortsetzung)

O-Gruppe	Anzahl der Stämme	Antiserum	Immunelektrophorese-Bild
1	2	3	4
149	1	0149 37°-OK-D615 18°-OK-D615	
149	7	0149	
	7	37°-OK-D616	
	7	18°-OK-D616	

Tabelle 7d

(Fortsetzung)

O-Gruppe	Anzahl der Stämme	Antiserum	Immunelektrophorese-Bild
1	2	3	4
8	9	08	
	9	37°-OK-G7	

Tabelle 7e
(Fortsetzung)

O-Gruppe	Anzahl der Stämme	Antiserum	Immunelektrophorese-Bild
1	2	3	4
157	1	0157	
	1	37°-OK-A ₂	
	1	18°-OK-A ₂	

Tabelle 8

Aufstellung der O-Gruppen, denen nach dem Schema von ØRSKOV et al., (1971, 1972) nur ein oder zwei Stämme zugeordnet werden konnten

O-Gruppe	Anzahl der Stämme	Antiserum	Immunoelktrophorese-Bild
1	2	3	4
6 20	2 1	06 020	1.1a
15 35 39 78 101 114 119 142	1 2 1 1 2 1 1 1	015 035 039 078 0101 0114 0119 0142	1Bb
24 37 64 96 110 121 133 143	2 1 1 1 1 1 1 1	37°-OK-24 037 064 096 0110 0121 0133 0143	2b

Zeichenerklärung: (Tabelle 7 und 8)

Zu Spalte 1: Bezeichnung der O-Gruppen

" 2: Anzahl der untersuchten Stämme

" 3: 06=O-Gruppenserum

37°-OK-G7 bzw. 18°-OK-A₂ = OK-Antiserum hergestellt mit bei 37° bzw. 18° bebrüteten Kulturen

" 4: Immunoelktrophorese-Bild von Bakterienextrakten gegen die homologen O-Gruppen- bzw. OK-Antiseren

Mein herzlicher Dank gebührt Herrn Oberveterinärdirektor Dr. G. Steger, dem Leiter des Landesuntersuchungsamtes für das Gesundheitswesen Nordbayern - Fachbereich Veterinärmedizin - in Nürnberg für die Überlassung des Themas und für die gebotene Möglichkeit zur Durchführung dieser Arbeit am Landesuntersuchungsamt.

Herrn Veterinärerrat Dr. J. Manz danke ich für die Einweisung in die Methodik und die Beratung und Hinweise bei zahlreichen Problemen.

Allen anderen Angestellten des Landesuntersuchungsamtes danke ich für die stete Hilfsbereitschaft und Unterstützung.

Lebenslauf

Am 1. Januar 1940 wurde ich als Sohn des Landeskirchenrats i.R. Dr. Karl-Werner Glaser und seiner Ehefrau Marlis Glaser, geb. Leopoldi, in Düsseldorf geboren.

Nach fünfjährigem Besuch der Volksschule trat ich 1951 in das staatliche Max-Planck-Gymnasium in Düsseldorf über, wechselte 1958 zur Julius-Stursberg-Schule in Neukirchen bei Moers und bestand dort 1962 das Abitur.

Nach zweijähriger Praktikantenzeit in einer Apotheke legte ich 1964 die pharmazeutische Vorprüfung in Düsseldorf ab.

Im Wintersemester 1965/66 begann ich an der Tiermedizinischen Fakultät der Universität München mit dem Studium. Am 18. Dezember 1973 erhielt ich die Bestallung als Tierarzt.

Seit Februar 1974 war ich mit der Anfertigung meiner Dissertationsarbeit am Landesuntersuchungsamt für das Gesundheitswesen Nordbayern-Fachbereich Veterinärmedizin- in Nürnberg beschäftigt. Vom 1. Mai 1975 bis zum 31. Oktober war ich dort als Tierarzt angestellt.

Seit 3. September 1975 bin ich mit Dr. Ilse Glaser, geb. Schweisgut, Tierärztin, verheiratet.

Seit 1. Januar 1976 bin ich am Städt. Veterinäramt in Bamberg angestellt.

